



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Fabiana Almeida Benigno

Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Ação Anti-Inflamatória do Óxido Nítrico na Doença Inflamatória Intestinal" referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação da Doutora Marília João Rocha, da Dra. Capitolina Maria de Figueiredo Fernandes Pinho e da Professora Doutora Bárbara Silva Rocha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2021



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Fabiana Almeida Benigno

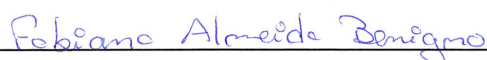
Relatórios de Estágio e Monografia intitulada "Ação Anti-Inflamatória do Óxido Nítrico na Doença Inflamatória Intestinal" referentes à Unidade Curricular "Estágio", sob a orientação da Doutora Marília João Rocha, da Dra. Capitolina Maria de Figueiredo Fernandes Pinho e da Professora Doutora Bárbara Silva Rocha, apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, para apreciação na prestação de provas públicas de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Julho de 2021

Eu, Fabiana Almeida Benigno, estudante do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, com o n.º 2016232253, declaro assumir toda a responsabilidade pelo conteúdo do Documento Relatórios de Estágio e Monografia intitulada “Ação Anti-Inflamatória do Óxido Nítrico na Doença Inflamatória Intestinal” apresentados à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no âmbito da unidade de Estágio Curricular.

Mais declaro que este Documento é um trabalho original e que toda e qualquer afirmação ou expressão, por mim utilizada, está referenciada na Bibliografia, segundo os critérios bibliográficos legalmente estabelecidos, salvaguardando sempre os Direitos de Autor, à exceção das minhas opiniões pessoais.

Coimbra, 15 de julho de 2021.



(Fabiana Almeida Benigno)

Agradecimentos

Começo por dar um grande agradecimento às duas pessoas mais importantes da minha vida, os meus pais, que sem eles nada disto tinha sido possível. Por todo o apoio que me deram durante toda esta etapa, por sempre acreditarem em mim e por me darem muita força para conseguir atingir os meus objetivos.

À minha restante família por estarem sempre presentes e por todo o apoio dado.

À Doutora Marília Rocha e a toda a equipa do CHUC por me receberem tão bem e por toda a atenção e ajuda que me deram ao longo do estágio.

À Dra. Capitolina Pinho e toda a equipa da Farmácia Figueiredo por me terem integrado na sua equipa e por me ensinarem a ser uma boa profissional.

À Faculdade de Farmácia e a todos os docentes e não docentes que contribuíram para minha formação e me deram bases importantes para ser uma boa farmacêutica.

À Professora Doutora Bárbara Rocha pela disponibilidade e apoio que me deu na realização da minha monografia.

Por fim, quero agradecer a todos os meus amigos, por estarem sempre presentes e por me ajudarem a finalizar mais uma etapa da minha vida.

A todos um obrigada!

Índice

Parte I – Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar

Lista de Abreviaturas	8
1. Introdução	9
2. Análise SWOT	9
2.1. Pontos Fortes	10
2.1.1. Plano de estágio	10
2.1.2. Radiofarmácia	10
2.1.3. Aplicabilidade de conhecimentos adquiridos e aquisição de novos conhecimentos	10
2.2. Pontos Fracos	11
2.2.1. Visitas médicas	11
2.2.2. Tempo de estágio	11
2.3. Oportunidades	11
2.3.1. Estagiar num hospital de referência nacional	11
2.3.2. Sistema Informático	12
2.4. Ameaças	12
2.4.1. Desvalorização do papel farmacêutico	12
3. Conclusão	12
4. Referências Bibliográficas	13

Parte II – Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária

Lista de Abreviaturas	15
1. Introdução	16
2. Farmácia Figueiredo	16
3. Análise SWOT	17
3.1. Pontos Fortes	17
3.1.1. Equipa Técnica	17
3.1.2. Sistema Informático	17
3.1.3. Metodologia Kaizen	18
3.1.4. Fitoterapia e Aromaterapia	19
3.1.5. Programa de Troca de Seringas	19
3.2. Pontos Fracos	20
3.2.1. Nomes comerciais	20
3.2.2. Receitas manuais	20
3.2.3. Erros de stock	20
3.3. Oportunidades	21
3.3.1. Estudo CEFAR – Utilização de corticosteroides nos degraus mais elevados da GINA	21
3.3.2. Preparação Individualizada de Medicação (PIM)	21
3.3.3. Formações	22
3.3.4. Notificação de Reações Adversas a Medicamentos	23
3.4. Ameaças	23
3.4.1. Medicamentos esgotados	23

4. Casos Clínicos	23
4.1. Caso 1	23
4.2. Caso 2	24
4.3. Caso 3	24
5. Conclusão	25
6. Referências Bibliográficas	26
7. Anexos.....	27

Parte III – Monografia: "Ação Anti-Inflamatória do Óxido Nítrico na Doença Inflamatória Intestinal"

Resumo	34
Abstract	35
Lista de Abreviaturas	36
1. Introdução.....	37
2. Doença inflamatória intestinal	38
2.1. Definição, principais características patológicas e semiológicas.....	38
3. Etiopatogenia: as hipóteses que sustentam um estado inflamatório crónico	39
3.1. Tratamento	44
4. Óxido Nítrico	45
4.1. Via L-arginina-óxido nítrico	45
4.2. Via Nitrato-Nitrito-Óxido nítrico.....	47
4.3. Efeitos fisiológicos do •NO	48
5. Ação do •NO na Doença Inflamatória Intestinal	48
6. Estudo n.º 1.....	49
7. Estudo n.º 2.....	51
8. Estudo n.º 3.....	54
9. Estudo n.º 4.....	57
10. Estudo n.º 5.....	58
11. Estudo n.º 6.....	59
12. Discussão e conclusão.....	61
13. Referências Bibliográficas.....	64
14. Anexos.....	67

Parte I

Relatório de Estágio em Farmácia Hospitalar



Lista de Abreviaturas

CHUC - Centro Hospital e Universitário de Coimbra

SGICM - Sistema de Gestão Integrada no Circuito do Medicamento

SWOT - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

UMIV - Unidade de Misturas Intravenosas

I. Introdução

No âmbito da unidade curricular de estágio curricular do Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas realizei o estágio em farmácia hospitalar nos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospital e Universitário de Coimbra (CHUC). Este estágio teve a duração de dois meses, decorrendo no período de 3 de maio de 2021 a 29 de junho de 2021, e foi feito sob a orientação da Doutora Marília João Rocha.

O CHUC resulta da fusão de várias instituições entre elas o Hospital da Universidade de Coimbra, o Hospital Geral, a Maternidade Dr. Daniel de Matos, a Maternidade Dr. Bissaya Barreto, o Hospital Sobral Cid e o Hospital Pediátrico. O CHUC é um hospital de referência nacional que dá cobertura aos cuidados de saúde da região centro.^[1]

Os serviços farmacêuticos estão divididos em vários setores entre eles a distribuição, a farmacotecnia, a gestão e o aprovisionamento, a informação de medicamentos e dispositivos médicos, os ensaios clínicos e a auditoria interna. No meu estágio passei pelos setores de distribuição, ensaios clínicos, aprovisionamento e farmacotecnia (unidade de misturas intravenosas (UMIV), preparação de medicamentos não estéreis, radiofarmácia e unidade de preparação de citostáticos).^[2]

Este relatório consiste na elaboração de uma análise SWOT relativamente ao estágio realizado no CHUC.

2. Análise SWOT

SWOT corresponde ao acrónimo de *Strenghts* (Forças), *Weaknesses* (Fraquezas), *Opportunities* (Oportunidades) e *Threats* (Ameaças). É uma ferramenta usada por várias empresas com o objetivo de avaliarem os fatores internos e externos de uma organização de forma a desenvolverem estratégias para otimizarem o seu desempenho. Os fatores internos (Forças e Fraquezas) dependem apenas da organização enquanto os fatores externos (Oportunidades e Ameaças) são independentes da organização.^[3]

Neste relatório irei realizar uma análise SWOT relativamente ao estágio realizado no CHUC mencionando os pontos fortes, os pontos fracos, as oportunidades e as ameaças que encontrei durante a realização deste.

2.1. Pontos Fortes

2.1.1. Plano de estágio

O estágio foi realizado em vários setores dos serviços farmacêuticos. Foi-me possível passar duas semanas na distribuição e na unidade de preparação de citostáticos, e uma semana nos ensaios clínicos, armazém, radiofarmácia, UMIV e preparação de medicamentos não estéreis.

Este planeamento permitiu-me que passasse pelos diferentes setores dos serviços farmacêuticos dando-me uma visão geral do que cada um faz e como é que eles se relacionam entre si.

2.1.2. Radiofarmácia

Como referido anteriormente, foi-me dada a possibilidade de durante o meu estágio passar pela radiofarmácia. A radiofarmácia é uma área da farmacotecnia que se dedica à preparação e controlo de qualidade de radiofármacos. Os radiofármacos são compostos que apresentam um isótopo radioativo associado a um fármaco. São usados como meio de diagnóstico, mas também para o tratamento de patologias.^[4]

Considero a minha passagem pela radiofarmácia um ponto forte do meu estágio porque permitiu-me conhecer melhor uma área que não é muito falada durante o curso de ciências farmacêuticas e o estágio permitiu aprender como são preparados os radiofármacos, quais são os ensaios de controlo de qualidade que devem ser feitos e qual é a aplicabilidade que estes têm quer a nível do diagnóstico quer a nível do tratamento. Também foi possível perceber que os radiofármacos estão a começar a ter uma maior aplicabilidade a nível do tratamento de doenças, mostrando-se ser uma boa alternativa quando outros fármacos não são eficazes.

2.1.3. Aplicabilidade de conhecimentos adquiridos e aquisição de novos conhecimentos

Durante este estágio, pude aplicar os conhecimentos que foi adquirindo durante os cinco anos de curso. Conhecimentos não só relacionados com a parte estruturar dos serviços farmacêuticos, adquiridos na unidade curricular de farmácia hospitalar, mas também relacionados com a farmacologia, farmácia clínica e farmacoterapia.

Para além disso, foi possível adquirir novos conhecimentos de medicamentos que não são vendidos na farmácia de oficina, como os citostáticos, como também acerca da parte mais regulamentar do medicamento a nível da forma de aquisição dos medicamentos, do seu armazenamento e do controlo dos seus prazos de validade.

2.2. Pontos Fracos

2.2.1. Visitas médicas

O farmacêutico hospitalar faz parte de uma equipa multidisciplinar formada por médicos, enfermeiros e outros profissionais com o objetivo de proporcionar o tratamento mais adequado ao doente. Por isso, muitas vezes, o farmacêutico faz visitas médicas aos doentes internados de modo a ter conhecimento do estado do doente e em conjunto com os outros profissionais de saúde discutirem qual será o tratamento mais indicado para cada doente.

Estas visitas médicas são feitas principalmente por farmacêuticos que se encontraram no setor da distribuição. O estágio na distribuição ocorreu no hospital geral, hospital este que foi direcionado para o internamento de doentes COVID19. Devido à presença de casos COVID19 no hospital e por uma questão de segurança não me foi possível assistir a estas visitas médicas. Considero um ponto fraco porque estas visitas são um ponto de intervenção farmacêutica muito importante e que demonstra o papel que o farmacêutico tem a nível hospitalar.

2.2.2. Tempo de estágio

Apesar de o estágio permitir a passagem por cada sector dos serviços farmacêuticos, considero que dois meses de estágio é pouco. Este curto tempo torna o estágio mais observacional porque não temos tempo para conseguir aprender a realizar determinadas tarefas como também algumas dessas tarefas apresentam uma grande responsabilidade e por isso só devem ser realizados por profissionais dotados.

No entanto, apesar de ser só observacional ajudou a ter uma noção de quais as tarefas de um farmacêutico nos diferentes setores farmacêuticos.

2.3. Oportunidades

2.3.1. Estagiar num hospital de referência nacional

Considero que estagiar num hospital de referência como o CHUC foi uma grande oportunidade concebida pela faculdade de farmácia e pelo CHUC.

Este contacto dei-me uma visão daquilo que é a realidade hospital na perspetiva farmacêutica e o papel que o farmacêutico tem não só relativamente ao medicamento, mas também ao doente.

Hospitais de referência recebem mais doentes com diferentes especialidades o que é uma vantagem porque permitiu-me conhecer novas patologias e os seus tratamentos.

2.3.2. Sistema Informático

O sistema informático utilizado pelo CHUC é o Sistema de Gestão Integrada no Circuito do Medicamento (SGICM). Este sistema é utilizado por todos os profissionais de saúde e contém toda a informação clínica do doente. É a partir deste sistema que são validadas as prescrições, que são rececionados e debitados os medicamentos e que são validadas as preparações da farmacotecnia. Este sistema também emite alertas por prescrição quanto a interações medicamentosas graves e ao número de dias a que um antibiótico está prescrito.

Durante todo o estágio tive a oportunidade de explorar o sistema, principalmente durante o estágio na distribuição, permitindo-me observar as diversas funcionalidades que este apresenta.

2.4. Ameaças

2.4.1. Desvalorização do papel farmacêutico

Durante o estágio no ambulatório do edifício do São Jerónimo, verifiquei que ainda há pessoas que não reconhecem o papel do farmacêutico a nível hospitalar e a importância da consulta farmacêutica, principalmente a primeira, em que é-lhe explicado a posologia do medicamento, as suas interações com outros medicamentos ou alimentos e os seus efeitos adversos e como diminuí-los.

Isto desvaloriza um pouco o trabalho que o farmacêutico desempenha a nível hospitalar. É importante consciencializar as pessoas que o farmacêutico é um profissional de saúde e que como o médico e o enfermeiro desempenha uma função importante no tratamento dos doentes.

3. Conclusão

O curso de ciências farmacêuticas não se baseia apenas em farmácia comunitária. Existem outras saídas profissionais possíveis sendo uma delas a farmácia hospitalar.

A escolha da realização deste estágio prende-se pela curiosidade que sempre existiu sobre esta carreira profissional.

Este estágio permitiu-me conhecer a realidade do dia a dia dos serviços farmacêuticos, os diferentes setores que fazem parte dos serviços farmacêuticos e as suas atividades, o circuito que o medicamento faz dentro do hospital e permitiu-me pôr em prática aquilo que foi adquirido ao longo de cinco anos como também a aprendizagem de novos ensinamentos que me serão úteis no futuro.

Considero este estágio uma experiência desafiante e enriquecedora que me ajudou a crescer a nível pessoal como a nível profissional.

4. Referências Bibliográficas

[1] – CENTRO HOSPITALAR E UNIVERSITÁRIO DE COIMBRA, E.P.E. – **Relatório e Contas 2019**. 2019 [Acedido a 5 de julho de 2021]. Disponível na internet: https://www.chuc.min-saude.pt/media/relatorios_contas/2019/Relatorio_e_Contas_CHUC_2019_-_Assinado_compressed.pdf

[2] – BROU, M.H.L.; FEIO, J.A.L.; MESQUITA, E.; RIBEIRO, R.M.P.F.; BRITO, M.C.M.; CRAVO, C.; PINHEIRO, E. – **Manual de Farmácia Hospitalar**. 2005 [Acedido a 5 de julho de 2021]. Disponível na internet: <https://www.infarmed.pt/documents/15786/17838/manual.pdf/a8395577-fb6a-4a48-b295-6905ac60ec6c>

[3] – GHAZINOORY, S.; ABDI, M.; AZADEGAN-MEHR, M. – **Swot methodology: a state-of-the-art review for the past, a framework for the future**. 12:1 (2011), 24-48.

[4] – ALSHAREF, S. – **Review about radiopharmaceuticals: Preparation, radioactivity, and applications**. 12:3 (2020), 8-15.

Parte II

Relatório de Estágio em Farmácia Comunitária



farmácia
figueiredo

Lista de Abreviaturas

AIM - Autorização de Introdução no Mercado

CEFAR - Centro de Estudos e Avaliação em Saúde

DCI - Denominação Comum Internacional

DGS - Direção-Geral da Saúde

HDL - *High Density Lipoproteins*

MSNRM - Medicamentos Não Sujeitos a Receita Médica

MSRM - Medicamentos Sujeitos a Receita Médica

PIM - Preparação Individualizada da Medicação

RAM - Reações Adversas a Medicamentos

SWOT - *Strenghts, Weaknesses, Opportunities and Threats*

VHB - Vírus da Hepatite B

VHB - Vírus da Hepatite B

VHC - Vírus da Hepatite C

VIH - Vírus da Imunodeficiência Humana

1. Introdução

De modo a concluir o Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, realizei no último semestre do curso, um estágio curricular na Farmácia Figueiredo.

Este estágio teve a duração de 480 horas, tendo início a 11 de janeiro de 2021 e fim a 30 de abril de 2021. Foi realizado sob a orientação da Dra. Capitolina Figueiredo Pinho.

Este relatório tem como objetivo a realização de uma análise SWOT sobre esse estágio curricular.

2. Farmácia Figueiredo

A Farmácia Figueiredo localiza-se no n.º 107 da Rua Sofia em plena Baixa de Coimbra. Foi inaugurada em 1928, contando com 93 anos de história, de dedicação e excelência nos serviços prestados à comunidade.

É constituída por cinco profissionais entre eles a Diretora Técnica, quatro farmacêuticas e uma técnica de farmácia. É uma equipa jovem, dedicada, dinâmica, que de dia para dia procura melhorar os seus serviços.

O horário de funcionamento da Farmácia Figueiredo é de segunda a sexta-feira das 8:30h às 19h e sábado das 9h às 13h.

A Farmácia Figueiredo é constituída por cinco pisos cada um com uma função distinta.

O Piso -I corresponde ao *backoffice* onde se realizam as atividades de receção e de armazenamento de medicamentos. Neste piso é feita a gestão do *stock* dos medicamentos como a sua devolução. A reconstituição de preparações extemporâneas é também realizada neste piso.

O Piso 0 corresponde à zona de atendimento ao público. Neste piso estão expostas várias gamas de dermocosméticos que estão ao dispor do utente. Atrás do balcão estão expostos medicamentos não sujeitos a receita médica (MSNRM), medicamentos homeopáticos e fitoterapêuticos, produtos ortopédicos, de higiene oral, de uso veterinário e de aromaterapia. Estão também armazenados em gavetas, medicamentos sujeitos a receita médica (MSRM) que apresentam maior rotatividade. Para além disso, neste piso também se realiza a medição da pressão arterial aos utentes.

No piso I realizam-se medições de glicémia, colesterol total e colesterol High Density Lipoproteins (HDL) que são importantes para a monitorização de patologias como a diabetes tipo II e dislipidemia. Neste piso encontram-se os excedentes dos produtos que estão expostos no piso 0 como também produtos cosméticos que não estão expostos na zona de

atendimento por uma questão de *marketing*. Também é neste piso que se realizam as consultas de podologia.

No piso 2 encontram-se dois gabinetes. Num dos gabinetes ocorrem as consultas de nutrição e o outro foi adaptado para a realização de testes rápidos antigénio COVID19.

No piso 3 encontra-se o gabinete da direção técnica, o servidor e um laboratório que é utilizado para a preparação individualizada de medicação (PIM).

3. Análise SWOT

A análise SWOT é uma ferramenta usada para avaliar o desempenho de uma organização. É formado por fatores internos que correspondem a pontos fortes e pontos fracos e externos que correspondem a oportunidades e ameaças. Neste relatório irei usar esta ferramenta de modo a avaliar quais foram os pontos fortes, os pontos fracos, as oportunidades e as ameaças que encontrei durante a realização deste estágio curricular.^[1]

3.1. Pontos Fortes

3.1.1. Equipa Técnica

Um dos fatores importantes para que uma farmácia tenha sucesso é a equipa de trabalho.

A equipa da Farmácia Figueiredo é um bom exemplo de uma boa equipa de trabalho. Entre eles existe um espírito de união e de ajuda fazendo com que haja um bem-estar entre os membros da equipa. Em relação aos seus utentes, são uma equipa atenciosa que procura sempre satisfazer as suas necessidades, mas também procura dar o melhor aconselhamento possível permitindo que o utente possa usar o medicamento de forma correta e ter êxito no seu tratamento. Isto possibilita criar com os seus utentes uma relação de confiança, justificando assim o elevado número de utentes fidelizados que apresenta.

Esta equipa também foi importante para a realização do meu estágio. Sempre se mostrou disponível para me ajudar nos momentos de maior dificuldade e transmitiram-me o seu conhecimento e experiência que foi importante para a minha aprendizagem.

3.1.2. Sistema Informático

O sistema informático utilizado na Farmácia Figueiredo é o Sifarma 2000® e o novo Sifarma®. Estes sistemas apresentam várias funcionalidades sendo muito úteis no *backoffice* e no atendimento.

A nível do *backoffice*, o Sifarma 2000[®], permite a criação, a gestão e receção de encomendas e de devoluções. É útil também na gestão dos *stocks* dos produtos na farmácia e no controlo de prazos de validade.

Em relação ao atendimento, quer o novo Sifarma[®] quer o mais antigo, são uma ferramenta importante permitindo que este seja feito de uma forma segura e eficaz. Ambos permitem a criação de uma ficha de utente onde são inseridos todos os seus dados. Através dessa ficha é possível registar o histórico da medicação, fazer registos de parâmetros bioquímicos e pressão arterial, como também colocar informação acerca do doente como por exemplo o tipo de participação que ele beneficia. Além disso também fornece informações sobre o medicamento que esta a ser cedido, quer a nível da sua localização na farmácia, ou seja, onde se encontra armazenado, o *stock* existente, o histórico de compras e vendas e quais são as marcas e laboratórios que existem desse medicamento, quer a nível de informação técnico-científica do medicamento, isto é, a indicação terapêutica, a posologia, a composição, o preço, as reações adversas, contraindicações, precauções e interações com outros medicamentos ou alimentos. Isto é um bom apoio para o farmacêutico conseguir melhorar o seu aconselhamento farmacêutico.

Contactei com os dois Sifarma[®] durante todo o meu estágio. Este contacto foi importante para me ambientar com estes sistemas, porque como a maioria das farmácias usam o Sifarma 2000[®] e muitas delas começam também a usar o novo Sifarma[®], é importante profissionalmente saber trabalhar com eles. Para além disso, também foi essencial nos meus primeiros atendimentos, permitindo a cedência do medicamento de forma segura e fazer um bom aconselhamento.

3.1.3. Metodologia Kaizen

Kaizen deriva do japonês e resulta da fusão de duas palavras, *Kai* que significa mudar, e *Zen* que significa melhor. Consiste num método de gestão em que o principal objetivo é haver uma melhoria contínua de modo a aumentar a rentabilidade da empresa e diminuir os desperdícios a nível de recursos e de tempo. Para que esta metodologia resulte é necessário que todas as pessoas da empresa contribuam.^[2]

A Farmácia Figueiredo é uma das seguidoras desta metodologia, através da realização de reuniões *Kaizen* diárias, em que se definem objetivos, se analisam em que estado se encontra a realização desses objetivos, se discute formas de melhoramento e se transmitem informações que influenciam o bom funcionamento da farmácia. Esta metodologia permite aumentar a produtividade e rentabilidade da farmácia, gerir melhor os seus recursos e o tempo

e melhora a capacidade de resposta aos utentes correspondendo às suas expectativas e necessidades.

Ao longo do estágio, assisti diariamente às reuniões *Kaizen* como também fui incentivada a esta ideia de melhoria contínua, de que é importante que todos dias tentemos fazer algo que melhore o funcionamento da farmácia. Esta metodologia será muito útil no meu futuro não só a nível profissional, mas também a nível pessoal.

3.1.4. Homeopatia, Fitoterapia e Aromaterapia

Para além da medicação convencional, a Farmácia Figueiredo apresenta também uma grande variedade de produtos homeopáticos, fitoterapêuticos e de aromaterapia.

A homeopatia consiste no uso de medicamentos que apresentam uma quantidade mínima de substância ativa devido às várias diluições que são realizadas.^[7] A fitoterapia utiliza medicamentos constituídos por substâncias ativas derivadas de plantas ou de preparações à base de plantas.^[8] Na aromaterapia usam-se óleos essenciais para a prevenção e tratamento de certos problemas de saúde.

Estas terapias são cada vez mais procuradas pelas pessoas e por isso é importante saber aconselhar bem o uso destes produtos. O contacto que tive com estes produtos durante o estágio foi importante para pôr em prática alguns conhecimentos de fitoterapia e aromaterapia adquiridos durante os cinco anos de curso como também adquirir novos conhecimentos acerca da homeopatia.

3.1.5. Programa de Troca de Seringas

A Farmácia Figueiredo é uma das farmácias que aderiu ao programa de Troca de Seringas.

Este programa foi iniciado em 1993 pela Direção-Geral da Saúde (DGS) e pelo Programa Nacional para a Infeção VIH/SIDA com o objetivo de prevenir a transmissão de infeções pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), pelo Vírus da Hepatite B (VHB) e pelo Vírus da Hepatite C (VHC) por via sexual, endovenosa ou parentérica entre pessoas que utilizam drogas injetáveis.^[3]

Este programa pretende evitar que as seringas sejam reutilizadas ou abandonadas. Estas devem ser entregadas numa farmácia depois de utilizadas para serem posteriormente destruídas. Ao entregar duas seringas na farmácia será entregue ao utente um novo *kit*.

A Farmácia Figueiredo está situada numa zona em que se encontram muitos toxicodependentes havendo a necessidade de implementar este serviço na farmácia.

Este programa permitiu-me mudar a minha visão em relação a esta realidade e mostrou-me que, nós farmacêuticos, desempenhamos um papel importante como agentes de saúde pública.

3.2. Pontos Fracos

3.2.1. Nomes comerciais

Os medicamentos são identificados pela sua denominação comum internacional (DCI), mas, muitas vezes, as pessoas conhecem o medicamento pelo nome comercial.

Uma das dificuldades que senti durante os atendimentos foi relacionar a nome comercial com o DCI devido à falta de prática e de não conhecer todas os nomes comerciais que um medicamento tem.

Além disso, devido às máscaras, aos acrílicos, ao ruído exterior e à má pronuncia do nome era difícil identificar qual o medicamento que o utente estava a pedir.

Contudo, com a ajuda da equipa técnica e o auxílio do sistema Sifarma[®] foi-me possível ultrapassar esta dificuldade.

3.2.2. Receitas manuais

A maioria das receitas médicas já são eletrónicas facilitando a cedência do medicamento e evitando a ocorrência de erros. Mas ainda são prescritas receitas manuais e durante o meu estágio foi confrontada com alguns casos. Uma das minhas maiores dificuldades foi perceber quais era os medicamentos prescritos devido à caligrafia do médico que muitas das vezes era pouco legível. Para além disso, senti-me também um pouco insegura na validação destas receitas.

No entanto, tive sempre o apoio da equipa técnica a quem recorri sempre para confirmar que o medicamento que estava a ceder correspondia ao medicamento prescrito e para me ajudar na validação das receitas médicas.

3.2.3. Erros de stock

Existem várias situações que levam a erros de *stock*. Estes podem ocorrer nos momentos de receção de encomendas, na venda ou quebra de produtos ou quando são devolvidos às distribuidoras.

Estes erros de *stock* são prejudiciais, principalmente durante o atendimento. Obriga a que demorem mais tempo a atender o utente por estarmos à procura do medicamento em causa, levando ao descontentamento do utente pelo aumento do tempo de espera.

Estes erros de *stock* quando são detetados devem ser logo corrigidos de modo a evitar estas situações.

3.3. Oportunidades

3.3.1. Estudo CEFAR – Utilização de corticosteroides nos degraus mais elevados da GINA

Entre 1 de novembro de 2020 a 28 de fevereiro de 2021, decorreu um estudo observacional em várias farmácias comunitárias coordenado pelo Centro de Estudos e Avaliação em Saúde (CEFAR), sobre a utilização de corticosteroides nos degraus mais elevados da GINA.

Esse estudo tinha como objetivo caracterizar a população com 18 ou mais anos, que usa broncodilatadores de ação longa associados a corticosteroides (ICS/LABA) na terapêutica de manutenção da asma. Esta caracterização é feita através do preenchimento de dois questionários; um presencial que é realizado na farmácia (Anexo 1) e o outro telefonicamente realizado pela CEFAR.

Uma das farmácias que aderiu a esse estudo foi a Farmácia Figueiredo, dando-me a oportunidade de assistir ao recrutamento de duas utentes utilizadoras de ICS/LABA.

Considero este estudo importante, porque ajuda os farmacêuticos a identificar mais facilmente os doentes com asma que fazem esta terapia, sendo depois possível atuar de modo a ajudar estes doentes a terem a sua doença controlada e a terem uma qualidade de vida melhor.

3.3.2. Preparação Individualizada de Medicação (PIM)

A PIM é um serviço, que pode ser feito nas farmácias, em que o farmacêutico organiza os medicamentos sólidos orais em dispositivos de múltiplos compartimentos de acordo com a posologia prescrita, selando-os e descartando-os após a sua utilização (Anexo 2). Para além disso também presta informação ao utente acerca da toma dos medicamentos. Este serviço tem como objetivo auxiliar o utente a fazer uma correta toma dos medicamentos promovendo a adesão à terapêutica.^[4]

A Farmácia Figueiredo disponibiliza este serviço aos seus utentes ou aos seus cuidadores como também realiza a PIM para várias instituições.

Durante o meu estágio foi-me dada a oportunidade de assistir a toda a organização e responsabilidade que este serviço exige, permitindo-me num futuro próximo ter a capacidade de o exercer.

Foi também útil no sentido de me ajudar a ultrapassar a dificuldade de relacionar o nome comercial do medicamento ao seu princípio ativo e de reconhecer alguns medicamentos pelas suas características organoléticas.

3.3.3. Formações

Para uma boa prática farmacêutica é essencial que haja uma formação contínua de modo a nos mantermos atualizados sobre os vários medicamentos novos que surgem como também de outros produtos como cosméticos ou fitoterapêuticos. Verifiquei que na Farmácia Figueiredo existe um incentivo por parte da direção técnica a que todos os membros da equipa participem em formações para aumentar os seus conhecimentos e prestarem um melhor serviço farmacêutico. Ao longo do estágio, foi-me possível assistir via remota a várias formações, entre elas:

- Formação Caudalie - apresentação dos seus produtos;
- Formação PHD com o tema Eflúvio Telogénico - Queda Temporária;
- Formação Tecnofar com o tema Aconselhamento em Cotexto COVID 19;
- Formação Apoteca Natura/ Aboca - apresentação dos seus produtos;
- Formação Globifer com o tema Anemia;
- Formação Libifeme - apresentação dos seus produtos;
- Formação Eucerin com o tema Queratose Actínica e apresentação do seu novo

produto.

Estas formações permitiram-me conhecer as marcas com quem a Farmácia Figueiredo colabora e a sua gama de produtos. Os conhecimentos adquiridos nestas formações ajudaram-me nos atendimentos permitindo-me fazer um aconselhamento certo acerca dos produtos disponíveis na farmácia.

Em virtude destas formações, foi-nos sugerido, a nós estagiárias, que realizássemos um panfleto acerca da suplementação de ferro (Anexo 3) tendo em conta a formação da Globifer, e um esquema de resumo sobre os diferentes produtos da marca Libifeme em que descrevemos a sua indicação terapêutica, posologia e efeito terapêuticos (Anexo 4) de forma a auxiliar a equipa técnica no momento da cedência destes produtos.

3.3.4. Notificação de Reações Adversas a Medicamentos

O INFARMED desempenha um papel importante na monitorização da segurança de todos os medicamentos com autorização de introdução no mercado (AIM) através da recolha de notificações de reações adversas a medicamentos (RAM), de forma a identificar possíveis riscos associados ao uso do medicamento e implementar medidas que minimizem a ocorrência desses riscos.^[5]

Para que isso ocorra é importante que haja a notificação dessas RAM por parte dos profissionais de saúde como também pelos doentes.

O farmacêutico desempenha um papel importante nestas notificações.

No estágio, eu e mais uma colega de estágio, com o apoio de uma das farmacêuticas da equipa técnica, notificamos RAM relacionadas com a vacina AstraZeneca de uma utente através do preenchimento de inquérito disponível no portal RAM do INFARMED (Anexo 5). Isto levou-me a compreender a importância que estas notificações têm e que o farmacêutico tem o dever de as fazer e educar os utentes para tal.

3.4. Ameaças

3.4.1. Medicamentos esgotados

Os medicamentos esgotados são medicamentos que se encontram indisponíveis durante algum tempo. Existem várias causas que levam a esta situação entre elas a produção do medicamento ser insuficiente em relação à sua procura, a destruição de lotes devido a erros que ocorram durante a produção do medicamento, a quebras na produção nos laboratórios e na distribuição do medicamento e também a exportação paralela que consiste na venda de medicamentos para fora de Portugal por parte da indústria a preços superiores aos que foram regulamentados cá.^[6]

Esta situação é problemática em todas as farmácias incluindo a Farmácia Figueiredo. Durante o meu estágio assisti a algumas situações em que não foi possível fornecer o medicamento ao utente por este se encontrar esgotado. Para resolver esta questão, a Farmácia Figueiredo faz um pedido de esgotados aos seus fornecedores todos os dias.

4. Casos Clínicos

4.1. Caso I

Um jovem dirigiu-se à farmácia procurando aconselhamento sobre uma manchas que lhe tinham aparecido na pele mais concretamente na zona do queixo, pescoço e peito. Estas

manchas tinham a forma de círculos quase perfeitos e apresentavam uma pigmentação mais clara em relação ao tom normal da pele.

Tendo em conta estas características, supôs, tendo em conta a opinião da farmacêutica que estava a acompanhar-me, ser uma infeção causada por algum fungo. Por isso cedi-lhe um antifúngico, Lamisil[®] creme, que tem como substância ativa a terbinafina. Aconselhei a aplicar na zona das manchas duas vezes ao dia após a limpeza dessa área, durante 1 semana.

4.2. Caso 2

Uma senhora dirige-se à farmácia solicitando pantoprazol para aliviar as suas dores de estômago. Numa conversa com a senhora foi possível perceber que andava a tomar Brufen[®] e Tramadol + Paracetamol à já uma semana, de forma descontínua, devido a dores provocadas pela sua artrose e tendinites.

Um dos efeitos secundários do Brufen[®] e do Tramadol + Paracetamol estão relacionados com problemas gástricos, o que pode ser a causa das dores de estômago que a senhora apresenta.

Nesse sentido, para aliviar as dores de estômago recomendei a toma do produto NeoBioacid[®], que é constituído por complexos de polissacarídeos e minerais que vão proteger a mucosa contra possíveis irritações como fármacos anti-inflamatórios não esteroides e analgésicos através da formação de uma película protetora, aliviando os sintomas de ardor, dor, refluxo gastroesofágico e gastrite.

Em relação às dores derivadas da tendinite e da artrose, devido à suas origens e como a senhora afirmou que não sentia efeito com o Brufen[®] aconselhei o uso de Voltaren[®] 25 mg duas vezes ao dia (um comprimido de manhã e um comprimido à noite) durante cinco dias. Caso no intervalo da toma sentir dores muito fortes poderá tomar um comprimido Tramadol + Paracetamol.

O NeoBioacid[®] deve ser tomado antes da toma dos anti-inflamatórios e analgésicos e quando sentir dores mais fortes de estômago.

Este tratamento deve ser feito durante cinco dias. Caso a dor não alivie aconselhei a senhora a dirigir-se ao seu médico.

4.3. Caso 3

Uma senhora apresenta-se na farmácia devido ao aparecimento de borbulhas no rosto, pescoço e peito, que provocavam um certo prurido.

Num diálogo com a senhora, pude perceber que a possível causa destas borbulhas poderia dever-se à exposição solar levando a uma dermatite solar.

Para o tratamento desta situação, recomendei o uso de anti-histamínico para o alívio do prurido.

Ao observar as borbulhas, deu a sensação, devido à vermelhidão e ao inchaço que apresentavam, de haver inflamação nessa zona. Para a diminuição desse estado de inflamação aconselhei o uso de um creme, que mimetiza a ação de um corticoide de baixa potência, devendo ser aplicada à noite 30 a 40 minutos antes de colocar os outros cremes. Antes de aplicar deve lavar o rosto sem usar produtos e sabões irritantes e perfumados e secar bem com uma toalha com leves toques. Aplicar uma camada fina na zona das borbulhas e realizar este tratamento durante 3 dias no máximo 5 dias. Durante o dia como a pele encontra-se mais sensível, aconselhei o uso de um protetor solar 50+ mesmo que não sai de casa ou que sai por pouco tempo.

Se esta situação não melhorar ou piorar ao fim dos cinco dias deve consultar o seu médico.

5. Conclusão

O estágio curricular é o passo final para a conclusão Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas.

Este estágio é importante para a conclusão do curso porque é uma forma de pormos em prático tudo aquilo que nos foi ensinado em cinco anos, mas também nos prepara para o nosso próximo passo que é entrada no mercado de trabalho.

Neste estágio foi possível ver a realidade da farmácia comunitária e o papel que o farmacêutico tem como promotor da saúde. Ajudou-me a consolidar conhecimentos e a apreender outros novos, ensinou-me a forma de comunicar e relacionar-me com os utentes, sendo eles o nosso principal foco, dando sempre o melhor aconselhamento possível para que realizem a sua terapêutica corretamente e consigam ter uma qualidade de vida melhor.

Foi uma experiência enriquecedora e desafiante, que me permitiu evoluir de uma forma gradual a nível profissional, mas também a nível pessoal.

Resta apenas agradecer à Farmácia Figueiredo por me ter acolhido bem e por todos os ensinamentos e experiências que me transmitiram e que serão úteis para o meu futuro como farmacêutica.

6. Referências Bibliográficas

- [1] – GHAZINOORY, S.; ABDI, M.; AZADEGAN-MEHR, M. – **Swot methodology: a state-of-the-art review for the past, a framework for the future.** 12:1 (2011), 24-48.
- [2] – COSTA, M. J. – **Kaizen.** 2016 [Acedido a 22 de junho de 2021]. Disponível na internet: <https://www.revistasauda.pt/noticias/Pages/Kaizen.aspx>
- [3] – SNS – **Programa de Troca de Seringas.** 2019 [Acedido a 22 de junho de 2021]. Disponível na internet: <https://www.sns.gov.pt/noticias/2019/11/11/programa-de-troca-de-seringas-2/>
- [4] – ORDEM DOS FARMACÊUTICOS – **Norma Geral de Preparação Individualizada de Medicação.** 2018 [Acedido a 22 de junho de 2021]. Disponível na internet: https://www.ordemfarmaceuticos.pt/fotos/documentos/norma_pim_vfinal_30_nge_00_010_02_1834827175bf58d479434f.pdf
- [5] – INFARMED – **Farmacovigilância.** 2016 [Acedido a 23 de junho de 2021]. Disponível na internet: <https://www.infarmed.pt/web/infarmed/entidades/medicamentos-uso-humano/farmacovigilancia>
- [6] – APIFARMA – **Exportação paralela é uma das principais causas de faltas de medicamentos em Portugal.** 2012 [Acedido a 23 de junho de 2021]. Disponível na internet: <https://internet.apifarma.pt/salaimprensa/noticias/Paginas/ExpMedpt.aspx>
- [7] – INFARMED – **Medicamentos homeopáticos.** 2016 [Acedido a 23 de junho de 2021]. Disponível na internet: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao_e_informacao/campanhas/-/journal_content/56/15786/1472939?tagName=outras-campanhas
- [8] – INFARMED – **Medicamentos à base de plantas.** 2016 [Acedido a 23 de junho de 2021]. Disponível na internet: https://www.infarmed.pt/web/infarmed/institucional/documentacao_e_informacao/campanhas/-/journal_content/56/15786/1463126?tagName=outras-campanhas

7. Anexos

7.1. Anexo I: Questionário do estudo CEFAR - Utilização de corticosteroides nos degraus mais elevados da GINA

Utilização de corticosteroides sistêmicos nos degraus terapêuticos mais elevados da asma

IMPORTANTE: Antes de começar a preencher, confirme que o utente tem diagnóstico de asma e utiliza um inalador com a dosagem de acordo com os critérios de inclusão, utilizando o fluxograma de screening.

ID do Utente: 15-121960 Cód. da Farm.: 05371 Data: 29/04/21
[NN - mm aaaa] [dd/mm/aa]

A. Braço do estudo indicado no fluxograma de screening

1. Inalador ICS/LABA de alta dose 2. Inalador ICS/LABA de média dose + LTRA ou LAMA 3. Inalador ICS/LABA (qualquer dose) + OCS

B. Caracterização sociodemográfica do utente

2. Género: Masculino Feminino 3. Idade: 60 anos

C. Caracterização da terapêutica

3. Em relação ao inalador ICS/LABA que o utente adquiriu, por favor indique:

3.1. Medicamento (DCI)	3.2. Dose	3.3. CNP
<u>Fluticasona + Budesonida</u>	<u>250 + 10 µg</u>	<u>5688242</u>

3.4. Posologia de manutenção*1: 1 inalação/inalações 2 vez(es) por dia. Não sabe

3.5. Frequência de utilização prescrita

- Todos os dias/contínuo/prolongado
 Apenas quando precisar (SOS)
 Não sabe

4. Para além do ICS/LABA, o utente utiliza mais algum medicamento para a asma?

- Não
 Sim

4.1. Se 'Sim', por favor indique todos os medicamentos que o utente utiliza atualmente para o tratamento da asma, além do inalador de ICS/LABA. Nesta pergunta, não mencione os corticosteroides orais.

Medicamento (DCI)	Forma farmacêutica	Dose	CNP	Posologia (puffs ou comprimidos por dia)
<u>Dont Pucast</u>	<u>comprimido</u>	<u>10 mg</u>	<u>5321914</u>	<u>1 cp à noite</u>
<u>Spiviva</u>	<u>sol. Inalação</u>	<u>25 mg</u>	<u>5114111</u>	<u>1 puff ao almoço</u>
<u>Tiotônio</u> <u>Budesonida</u>		<u>20 mg</u>	<u>5346747</u>	<u>SOS</u>
<u>Flotapro</u> <u>Amisofelina</u>	<u>compi</u>	<u>225 µg</u>	<u>9477349</u>	<u>200 µg + 1 noite</u>

D. Utilização de Corticosteroides Orais

5. O utente está a tomar ou tomou, nos últimos 12 meses, corticosteroides orais? (pode seleccionar mais do que uma opção)

Não [passe para a questão 6]

Sim, como terapêutica contínua/prolongada. *2 [Preencher o QUADRO I]

Sim, como terapêutica por pulsos/cursos/episódios. *3 [Preencher o QUADRO II]

*2 Utilização de OCS, todos os dias, durante 29 dias ou mais.

*3 Utilização de OCS por períodos iguais ou inferiores a 28 dias.

QUADRO I – Corticosteroides orais contínuos/prolongados				
I.a. Caracterização do medicamento:				
Medicamento (DCI)	F.farm.	Dose	CNP	Posologia
				_____ comprimidos/dia
I.b. Há quanto tempo utiliza? _____ meses OU _____ anos				

QUADRO II – Corticosteroides orais por pulsos/cursos/episódios	
II.a. Por favor indique:	
• Em quantos episódios o utente tomou corticosteroides orais no último ano?	_____ episódios.
• Em média, durante quantos dias por episódio?	_____ dias.
• Para que patologia? (se aplicável, selecione ambas)	<input type="checkbox"/> Asma <input type="checkbox"/> Outra patologia
II.b. Relativamente ao episódio mais recente em que o utente tomou corticosteroides orais, indique:	
• Há quanto tempo aconteceu?	<input type="checkbox"/> Atual <input type="checkbox"/> No último mês <input type="checkbox"/> Entre 1 a 3 meses <input type="checkbox"/> Entre 4 a 12 meses
Medicamento (DCI)	F.farm. Dose Posologia
	_____ comprimido(s) _____ vez(es) por dia, durante _____ dia(s).

D. Relativamente ao inalador ICS/LABA, por favor PERGUNTE AO UTENTE:

6. É a primeira vez que utiliza este medicamento?

Sim [Terminar questionário]

Não.

6.1. Se 'Não':

6.1.1. Há quanto tempo utiliza? _____ meses OU 3 anos

6.1.2. Que frase descreve melhor a forma como utiliza este inalador?

Utilizo o inalador todos os dias

Utilizo em alguns dias e noutros não

Só utilizo quando tenho sintomas

Não utilizei nos últimos meses



A primeira parte do questionário termina aqui. Por favor, lembre o utente que será contactado telefonicamente nos próximos dias para completar o questionário. Muito obrigado.

7.2. Anexo 2: Preparação Individualizada da Medicação



7.3. Anexo 3: Panfleto de Suplementação de Ferro

Fontes de Ferro

- Fígado
- Ostras
- Carne vermelha
- Nozes
- Mariscos
- Cereais
- Arroz
- Massa

Bibliografia

<https://www.medmanuals.com/pt/pt/profissional/>

DGS, Direção-Geral de Saúde. "Suplementação intermitente de ferro e ácido fólico em mulheres em idade fértil".

SAÚDE, Direção-Geral de Saúde. "Abordagem, Diagnóstico e Tratamento da **FERROPÉNIA** no Adulto. Norma no 30 da DGS: 30/2015) 1-37.

Ingestão Diária de Ferro Recomendada (em mg)

Lactentes (Meses)		Crianças (Anos)	
0-6	7-12	1-3	4-8
0,27	11	7	10

Homens (Anos)				
9-13	14-18	19-30	31-50	+50
8	11	8	8	8

Mulheres (Anos)				
9-13	14-18	19-30	31-50	+50
8	15	18	18	8

Adaptado de: Maltoni L. Ferrugine. In: Enciclopedia de Nutrição e Saúde Médica, 2017. Disponível em: <http://www.encyclopedia-nutricao-e-saude-medica.com.br/>

Rua da Sofia 107, 3000-350
Colmbra
—
239 822 837
—
farmacia.figueiredo.cbr@gmail.com

Suplementação em Ferro

O ferro é um micronutriente que desempenha várias funções importantes no nosso organismo. Faz parte da hemoglobina e da mioglobina sendo responsável pelo transporte de oxigénio para toda a parte do corpo como também faz parte da estrutura de algumas enzimas.

Existem duas formas de ferro: o ferro Heme que se pode encontrar em alimentos de origem animal e é aquele que é mais absorvido e o ferro não Heme que se encontra nos vegetais e leguminosas e ovos, mas é menos absorvido. A sua absorção é aumentada com o ácido ascórbico.

A deficiência em ferro (**ferropénia**) é uma das mais frequentes e é responsável por provocar anemia ferropénica.

Sinais e sintomas de deficiência

- Cansaço e dificuldade de concentração;
- Dores de cabeça;
- Falta de ar
- Taquicardia;
- Unhas em formade colher;
- Síndrome das pernas inquietas;
- **Picafeia** (desejo de comer coisas não comestíveis);

Alimentos que diminuem a sua absorção

- Compostos fenólicos: chá e café;
- Polifenóis: aveia, germe de trigo, lentilha, espinafres, beringela;
- Ovo;
- Leite;
- Vinho.

Vitamina C → Aumenta a absorção de Ferro

Causas de défice

- Ingestão insuficiente de ferro (vegetarianos ou malnutrição);
- Má absorção devido a doenças gastrointestinais (doença celíaca ou insuficiência renal crónica);
- Sangramentos crónicos;

Tratamento

Segundo a Norma 030/2013 da DGS, para a abordagem, diagnóstico e tratamento da **ferropénia** no adulto, a primeira linha de tratamento é administração de ferro oral numa dose inicial de 100-200 mg por dia.

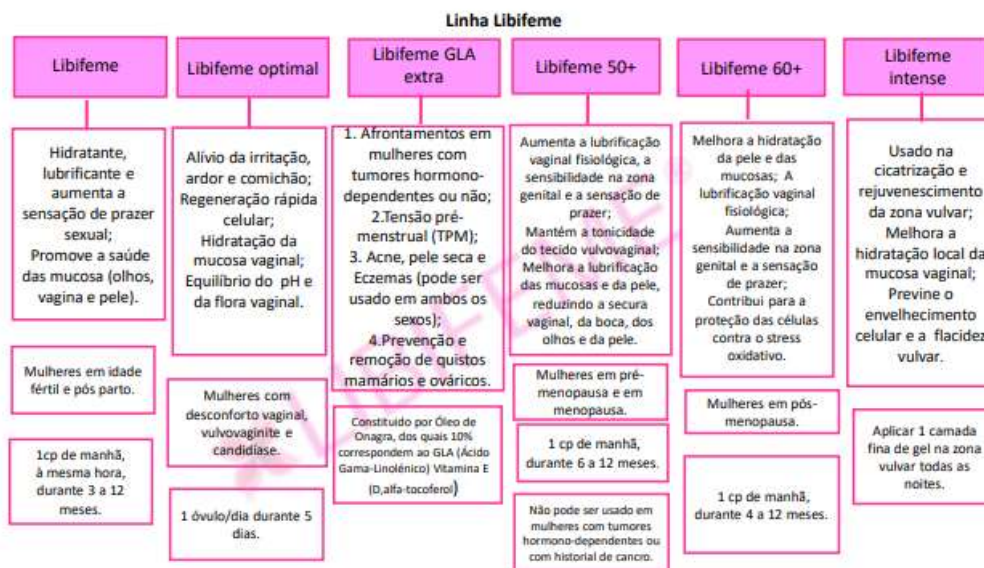
Como tomar os medicamentos orais de Ferro

É importante que as tomas sejam feitas com o estômago vazio para impedir que a sua absorção sofra alterações devido a interações com alimentos.

Medicamentos que alteram a sua absorção

- Protetores Gástricos (antiácidos, antirreflexo, inibidores da bomba de prótons);
- Antibióticos: tetraciclina, penicilinas e quinolonas (ciprofloxacina, a norfloxacina e a ofloxacina);
- Cloranfenicol;
- Bifosfonatos;
- Levodopa;
- Cálcio;
- Magnésio

7.4. Anexo 4: Esquema dos produtos Libifeme



Tratamento Libifeme GLA


1. Tomar 2 cápsulas por dia durante 1 ano;
2. Tomar 2 cápsulas por dia, 1 semana antes da menstruação ou quando começar a aparecer sintomas. Repetir no próximo mês;
3. 1ª caixa: 2 cápsulas por dia numa só toma ou uma de manhã e outra à noite;
2ª caixa: 1 cápsula por dia durante um ano;
4. Tomar 2 cápsulas por dia durante 15 dias, seguido de 1 cápsula por dia durante 1 ano. Após 1 ano de toma fazer um intervalo de 1 mês e repetir a toma;

Situações exacerbadas: 1ª caixa: 2 cápsulas por dia numa só toma ou uma de manhã e outra à noite;
2ª caixa: 1 cápsula por dia durante um ano;

Bibliografia: <https://www.libifeme.com/index.php/pt/>
consultado a 18/03/2021

7.5. Anexo 5: Notificação de RAM

Infarmed > Entidades > Medicamentos de uso humano > Farmacovigilância > Notificação de Reações Adversas (RAM) > Notificar reação [Adicionar aos favoritos](#)

 **Portal RAM**
Notificação de Reações Adversas a Medicamentos

Reações Adversas

Se tiver ocorrido mais do que uma reação, poderá adicionar 'Outra Reação'.

[Outra Reação](#)

Reação Adversa

Descrição da RAM (de preferência em inglês se for optar por colocar os termos do dicionário médico MedDRA)*

Myalgia of lower extremities; Fever; Arthralgia multiple

Evolução da Reação*

Cura

Critérios de Gravidade

Não grave

Data de Início

08/04/2021

Data de Fim

10/04/2021

Duração da Reação

2 Dia(s)

Causalidade

Provável

Tratamento da reação adversa

Paracetamol 1000 mg de 8/8 horas

Medicamentos

Preencha o medicamento que suspeite ter causado a reação. Se for mais do que um, adicione 'Outro Medicamento'. Sempre que possível, preencha com o Nome Comercial e o máximo de informação que tiver disponível. Se a doente se encontrava grávida quando utilizou o medicamento p.f. consulte e preencha o campo 'Outras informações'.

[Outro Medicamento](#)

Medicamento

Medicamento*

Vaxzevria previously COVID-19 Vaccine AstraZeneca/Vacina

Lote

ABW0003

Tipo de Autorização

AIM - Autorização de Introdução no Mercado

Posologia

Duas doses separadas de 0.5 ml cada

Data de Início

08/04/2021

Data de Fim

08/04/2021

Via de Administração

Intramuscular (via)

Dosagem

>= 2.5 x 10e8 U.Inf./0.5 ml

Forma Farmacéutica

Solução injetável

Medida Tomada

Suspensão

Indicação Terapêutica

Imunização ativa para prevenir a COVID-19 causada pelo vírus.

Doente

Iniciais

ILP

Sexo

Masculino Feminino

Data de Nascimento

12/03/1993

Idade à Data da RAM

28 Ano(s)

Peso (kg)

47,00

Altura (cm)

156

Notificador

Nome Próprio*

Inês

Apelido(s)*

Lopes Pereira

Concelho*

Coimbra

Local de Trabalho*

Farmácia
Hospital
Local de Venda MNSRM
Centro de Saúde/USF
Outro

FIGUEIREDO (Coimbra)

Código Postal

3000-390

i
Localidade
Coimbra

Qualificação*
Farmacêutico

Email*
farmacia.figueiredo.cbr@gmail.com

Telefone/Telemóvel

Nº Carteira/Cédula Profissional

Outras Informações

Medicamento Concomitante

Ocorreu Erro de Medicação?

Preencha com outras informações relevantes, tais como:

- Via de administração se não especificada anteriormente;
- História clínica e farmacológica;
- Alergias conhecidas;
- Resultados de exames e análises relacionados com a reação adversa;
- Informação sobre recorrência ou não de reação adversa com a reintrodução do medicamento;

- Se suspeita que a reação adversa resultou de interação com outros medicamentos, produtos à base de plantas ou suplementos alimentares (para emagrecimento, para desportistas, vitaminas, etc.);
- Se exposição na gravidez p.f. refira se a reação ocorreu no bebé, na mãe ou em ambos; o tempo de gestação à data da toma, outros medicamentos usados durante a gravidez, informação de gravidezas anteriores, datas de ecografias e resultado das mesmas; após o parto refira também o tempo de gestação e informações do bebé, como peso, índice APGAR e eventuais problemas detetados.

Outras informações

Adicionar documento

Nome do(s) documento(s)

Sem resultados

Tratamento de Informação e Confidencialidade dos Dados

Aviso:

Para poder notificar uma reação adversa, é necessário fornecer alguns dados pessoais para que seja possível contactá-lo, caso haja necessidade de esclarecimentos adicionais relativamente à mesma. As informações fornecidas serão mantidas seguras e confidenciais, e não serão partilhadas com entidades externas ao Sistema Nacional de Farmacovigilância. Os dados pessoais podem ser consultados e alterados pelo próprio notificador que se tenha

registado ou podem ser objeto de pedido de alteração se o notificador não se encontrar registado, no caso de estarem incorretos ou desatualizados.

Confirmo que li e compreendi o texto em cima*

Submeter

Encontrou algum problema nesta página? [Informe-nos](#)

Tem dúvidas? Consulte a nossa lista de [Perguntas frequentes](#)

[LINKS](#) [MAPA DO SITE](#) [AJUDA](#) [SOBRE O SITE](#) [CONTACTOS](#) [ONDE ESTAMOS](#) [ACESSIBILIDADE](#)

Infarmed © 2016. Todos os direitos reservados



Desenvolvido por



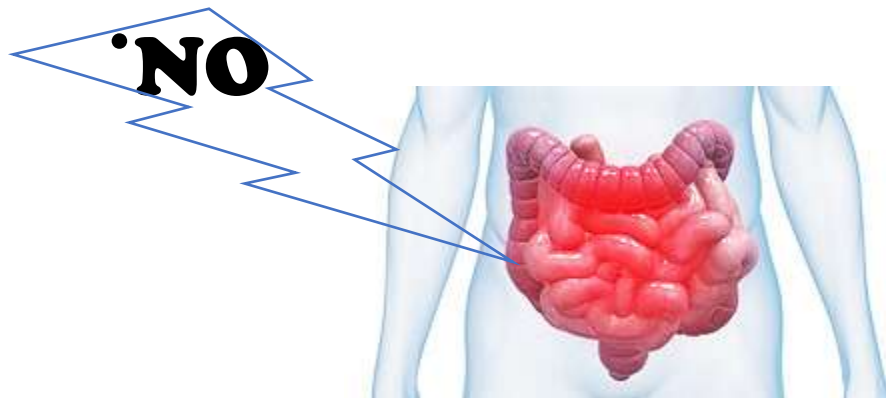
5

7

6

Parte III

“Ação Anti-Inflamatória do Óxido Nítrico na Doença Inflamatória Intestinal”



Resumo

O óxido nítrico tem demonstrado funções reguladoras e protetoras a nível do sistema cardiovascular, gastrointestinal, nervoso e imunológico. Devido a estes efeitos, tem sido sugerida a sua utilização na prevenção e no tratamento de algumas patologias.

A via clássica e inicialmente descrita de síntese do óxido nítrico (NO) é designada por via L-arginina-óxido nítrico. Tem como precursor o aminoácido L-arginina e a conversão ocorre numa reação de oxidação-redução em que o oxigénio é reduzido ao mesmo tempo que a L-arginina é oxidada, havendo a formação de óxido nítrico. Para esta conversão é necessária a presença de oxigénio e de uma das isoformas da enzima óxido nítrico sintase.

Com a descoberta da via nitrato-nitrito-óxido nítrico, via essa em que o óxido nítrico é obtido através da redução de nitrato e nitrito proveniente da dieta, e tendo em conta a ação anti-inflamatória e protetora do óxido nítrico na mucosa gastrointestinal, foram realizados vários estudos com o objetivo de determinar se se poderia usar o nitrato oral na prevenção e tratamento de algumas doenças inflamatórias gastrointestinais como a doença inflamatória intestinal.

Neste trabalho pretende-se reunir alguns desses estudos e discutir os prováveis benefícios que o óxido nítrico pode trazer na fisiopatologia da doença e conseqüentemente na sua progressão, com potenciais efeitos na qualidade de vida dos doentes.

Palavras-chave: Óxido nítrico, Doença Inflamatória Intestinal, Nitrato, Nitrito.

Abstract

Nitric oxide is a signalling molecule with various regulatory and protective functions at cardiovascular, gastrointestinal, nervous and immunological levels. Thus, in the past decades, the use of nitric oxide in the prevention and treatment of some pathologies has been hypothesized.

The classical pathway for nitric oxide synthesis in vivo is the oxidation of L-arginine while oxygen is reduced, thereby generating nitric oxide. This is known as the classical, L-arginine-nitric oxide pathway. For this conversion it is necessary the presence of oxygen and one of the isoforms of the enzyme nitric oxide synthase.

With the discovery of the nitrite-nitrite-nitric oxide pathway, in which nitric oxide is produced by the reduction of nitrate and nitrite from the diet, and taking into account the anti-inflammatory and protective action of nitric oxide in the gastrointestinal mucosa, several studies were conducted to determine whether dietary nitrate could be used in the prevention and treatment of inflammatory gastrointestinal diseases such as inflammatory bowel disease.

The aim of this work is to review some of these studies and discuss the likely benefits of nitric oxide in inflammatory bowel disease progression and its impact on patient's quality of life.

Keywords: Nitric Oxide, Inflammatory Bowel Disease, Nitrate, Nitrite.

Lista de Abreviaturas

·NO – óxido nítrico

AINEs – anti-inflamatórios não esteroides

BH4 – tetra-hidrobiopterina

CaM – calmodulina

DAI – índice da atividade da doença

DC – Doença de Crohn

DII – doença inflamatória intestinal

DSS – sulfato de dextrano de sódio

eNOS – NOS endotelial

FAD – dinucleótido de flavina-adenina

FMN – mononucleótido flavina

GC – guanilato ciclase

GMPc – guanosina monofosfato cíclico

ICAM-1 – molécula de adesão intercelular-1

iNOS – NOS indutiva

MAM – molécula anti-inflamatória microbiana

MPO – mieloperoxidase

MUC2 – mucina 2

NF-κB – fator de transcrição nuclear κB

nNOS – NOS neuronal

NOS – óxido nítrico sintetase

ROS – espécies reativas de oxigénio

TGI – trato gastrointestinal

Th1 – T helper 1

Th17 – T helper 17

Th2 – T helper 2

TJ – *tight junctions*

Treg – T reguladoras

UC – Colite Ulcerosa

I. Introdução

A doença inflamatória intestinal (DII) é uma doença crónica, sem cura, que afeta principalmente o colón.^[1] É diagnosticada na maioria dos casos em adolescentes e jovens adultos entre os 15 e os 30 anos, sendo que pode ser diagnosticada em idades mais avançadas.^[2]

Segundo dados epidemiológicos de 2017, a prevalência da DII a nível mundial era de 84,3 casos por 100 000 habitantes.^[3] Esta prevalência incidia mais nos países da América do Norte, Europa e Oceânia do que na Ásia e África.^[3] No entanto, nos últimos dez anos, tem-se verificado um aumento da incidência da DII nos países asiáticos como a China e Índia.^[3]

Em Portugal existem poucos dados epidemiológicos acerca da DII. A única informação existente refere-se ao período entre 2003 e 2007, altura em que foi feita uma abordagem farmacoepidemiológica acerca do consumo de anti-inflamatórios usados no tratamento de patologias intestinais em Portugal. A partir desse estudo foi possível estimar a prevalência de DII pois estes fármacos são os mais usados por doentes com esta patologia. Nesse estudo, verificou-se que a prevalência de DII aumentou de 86 para 146 casos por cada 100 000 habitantes entre 2003 e 2007.^[4]

No futuro prevê-se que a prevalência da DII aumente devido à cronicidade da doença, ao aumento da incidência e à baixa mortalidade que lhe está diretamente associada.^[2] É de notar que, apesar de apresentar uma baixa mortalidade, a DII induz uma elevada morbidade devido à sua cronicidade, à imprevisibilidade do aparecimento dos surtos, aos seus sintomas característicos (diarreia com ou sem sangue, dor abdominal) e por não haver um tratamento curativo.^[5] Assim, a DII afeta em muito a qualidade de vida do doente, não só a nível físico, mas também a nível mental e social.^[5]

Tendo em conta o carácter inflamatório da doença, é importante desenvolver novos tratamentos ou novas formas de prevenção com o objetivo de mitigar ou inibir o estado inflamatório e melhorar a qualidade de vida destes doentes. Neste sentido, o nitrato oriundo da dieta, tem-se revelado um possível candidato na regulação da inflamação e na manutenção da homeostase da barreira epitelial, através da ação do óxido nítrico (NO) que é formado pela redução de nitrato e de nitrito no trato gastrointestinal (TGI).

2. Doença inflamatória intestinal

2.1. Definição, principais características patológicas e semiológicas

A DII é uma doença crónica, progressiva, que se caracteriza por estados de inflamação intermitentes em várias porções do TGI.^[1, 6]

A doença vai-se intercalando entre surtos inflamatórios que se manifestam na maioria dos casos em diarreia com ou sem sangue e muco, dor abdominal, fadiga, perda de peso, tenesmo e eventualmente febre. Pelo contrário, em estados de remissão há uma diminuição ou mesmo ausência de sintomas.^[1, 6]

Para além dos sinais e sintomas intestinais, a DII também apresenta manifestações extraintestinais a nível cutâneo, como o eritema nodoso, a nível músculo-esquelético, como a artrite e a osteoporose, a nível ocular, como a uveíte e irite e a nível hepatobiliar, como cálculos biliares.^[1,5] Em crianças observa-se um atraso no crescimento e na maturação sexual.^[5]

A DII abrange essencialmente duas patologias: a Doença de Crohn (DC) e a Colite Ulcerosa (CU).^[6] Elas diferem entre si nas porções do TGI que afetam, na profundidade da parede intestinal que atingem, nos sintomas, na forma de progressão ao longo do TGI, nas complicações e nas características histopatológicas. Estas diferenças podem ser consultadas nas Figuras 1 e 2 e na Tabela 1.^[5,7]

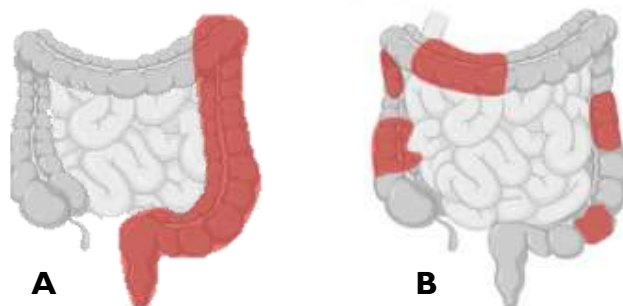


Figura 1: Ilustração da localização da Colite Ulcerosa (A) e da Doença de Crohn (B). Adaptado de [3].

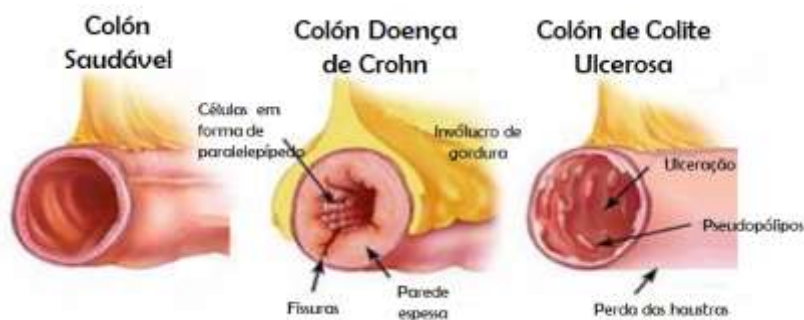


Figura 2: Ilustração do colón saudável e numa situação de Doença de Crohn e de Colite Ulcerosa. Adaptado de [8].

Tabela 1: Diferenças entre Colite Ulcerosa e Doença de Crohn

	Colite Ulcerosa	Doença de Crohn
Localização	Inicia-se no reto e estende-se de forma contínua pelo cólon.	Pode afetar qualquer porção do TGI sendo mais frequente a porção do íleo terminal e do cólon.
Profundidade	Mucosa	Transmural
Sintomas	Anemia Dor abdominal Perda de peso e de apetite Diarreia com sangue e com ou sem muco Tenesmo	Febre Suores noturnos Náuseas e vômitos Dor abdominal Perda de peso e de apetite Diarreia crônica sem sangramento
Progressão	Contínua e simétrica no sentido distal para proximal	Segmentar e irregular
Complicações	Úlceras mucosas Edemas Sangramento Perda de eletrólitos Abscessos crípticos Cancro colorretal	Estenoses Fístulas Abscessos Lesões perianais Obstrução intestinal
Características Histopatológicas	Infiltrado neutrofílico Distorção de criptas Metaplasia das células de Paneth Presença de pseudopólipos	Infiltrado linfocítico Lesões salteadas Granulomas epitelioides Mucosa com aspeto “em pedra de calçada”

3. Etiopatogenia: as hipóteses que sustentam um estado inflamatório crônico

Atualmente, ainda não é conhecida a etiologia precisa da DII, mas existe uma hipótese que sugere que este estado de inflamação resulta de alterações na resposta do sistema imunológico contra a microbiota intestinal. Para esta interação aberrante contribuem fatores microbiológicos (associados à microbiota), genéticos e ambientais.^[6]

No intestino existe uma grande diversidade e quantidade de bactérias que formam a microbiota.^[9] É formada por mais de 1000 espécies diferentes de bactérias, mas também por outros organismos em menor número como vírus, fungos e bacteriófagos. Dentro da microbiota intestinal existem quatro filos principais: *Firmicutes*, os *Bacteroidetes*, os *Actinobacteria* e os *Proteobacteria*. Numa situação normal, sem a presença de doença, os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* encontram-se em maior quantidade em relação aos filos *Actinobacteria* e *Proteobacteria*.^[10]

A microbiota intestinal desempenha um papel importante a nível da nutrição e da imunidade.^[9] É responsável pela metabolização de alguns dos nutrientes oriundos da dieta que dão suporte à barreira epitelial assegurando a sua integridade. Para além disso, promove não só a maturação do sistema imunológico como também impede a colonização de bactérias

patogénicas através da secreção de peptídeos antimicrobianos bem como pela colonização competitiva, mantendo assim o equilíbrio intestinal.^[9] Assim, a microbiota pode ser considerada uma linha de defesa do TGI em conjunto com o muco e a barreira epitelial.

A barreira epitelial é formada por enterócitos e células epiteliais especializadas como células calciformes e células de Paneth. Esta permite a translocação seletiva de compostos presentes no lúmen intestinal e impede a passagem de organismos patogénicos para a lamina própria devido à existência das junções intercelulares como as *tight junctions* (TJ) e as junções de adesão, que diminuem a permeabilidade.^[9] Para além disso, as células de Paneth libertam peptídeos antimicrobianos, como a alfa-defensina, que após a exposição a estímulos, quer externo (nutrientes como o ácido butírico e a leucina) quer internos (metabolitos bacterianos), vão recrutar mais células imunes de modo a eliminarem os microrganismos patogénicos e as células danificadas.^[7,9,11,12] As células calciformes são responsáveis pela produção de mucina 2 (Muc2), uma glicoproteína responsável pela formação de uma camada protetora de muco sobre a barreira epitelial.^[13] Esta camada impede a interação entre as bactérias intestinais e as células epiteliais.^[9]

A camada de muco está dividida em duas. Uma camada externa que é pouco aderente ao colón e que está colonizada pelas bactérias intestinais e uma camada mais interna que é fortemente aderente ao colón e é estéril devido à presença de uma maior quantidade de Muc2 e à secreção de imunoglobulina A (IgA) pelas células B. A secreção de Muc2 e de IgA é estimulada pela microbiota intestinal.^[9, 11]

Quando o organismo está exposto a determinados fatores externos do âmbito dietético (dieta rica em gorduras, açúcar, alimentos processados, com conservantes químicos e pobre em fibras) e farmacológico (toma prolongada de antibióticos e de anti-inflamatórios não esteroides (AINEs)), podem ocorrer alterações da microbiota intestinal levando a um estado de disbiose.^[3,9,11]

A disbiose é caracterizada por um desequilíbrio entre as bactérias comensais e as patogénicas observando-se uma diminuição das bactérias comensais como a *Faecalibacterium prausnitzii* e um aumento das patogénicas como a *Escherichia coli*.^[9, 11]

A *F. prausnitzii* é uma espécie que pertence ao filo *Firmicutes* e desempenha um papel importante na manutenção de um ambiente intestinal saudável. É responsável pela fermentação das fibras da dieta em ácido butírico, um ácido gordo de cadeia curta que tem um papel importante no reforço da barreira epitelial, impedindo assim a infiltração de microrganismos patogénicos. Além disso, também está envolvido na regulação da microbiota e na resposta imunológica. Para além disso, a *F. prausnitzii* atua no processo anti-inflamatório

devido à produção da molécula anti-inflamatória microbiana (MAM), uma proteína que inibe a via do fator de transcrição nuclear kB (NF-kB) nas células epiteliais intestinais.^[9, 14]

A *E. coli* é uma enterobactéria que se encontra numa pequena quantidade na microbiota comensal. Apresenta um fenótipo aderente e invasivo. Em situações de disbiose, o número de *E. coli* aumenta e como tem a capacidade de aderir às células epiteliais, estas bactérias infiltram-se e invadem camadas mais profundas do intestino.^[11]

A disbiose vai provocar inúmeras vulnerabilidades a nível intestinal e sistémico. Uma delas é a diminuição da secreção de Muc2 e de IgA, devido à diminuição da microbiota comensal que é responsável por estimular essa secreção. Assim, bactérias como a *E. coli* conseguem atingir a camada interna do muco, ultrapassando a barreira epitelial.^[9] A outra é a diminuição da população de *F. prausnitzii* provocando alterações estruturais da barreira epitelial com consequente aumento da permeabilidade.^[9] Com a invasão da camada interna de muco e com o aumento da permeabilidade, as bactérias conseguem com facilidade atingir a lamina própria, desencadeando uma resposta imuno-inflamatória por parte do hospedeiro.^[9] Esta ativação inicia-se com o reconhecimento dos antígenos destas bactérias através dos receptores *Toll-like* presentes nas células epiteliais intestinais e nas células de imunidade inata, como os macrófagos e as células dendríticas. As células dendríticas internalizam o antígeno, processam-no e apresentam-no de seguida às células T CD4+, ativando-as. A ativação das células TCD4+ permite que estas se diferenciem em 4 tipos de células. As células T helper 1 (Th1), as T helper 2 (Th2), as T helper 17 (Th17) e as células T reguladoras (Treg).^[3] As células Treg libertam citocinas anti-inflamatórias (IL-10 e TGF-β) e desempenham um papel importante na regulação da homeostase da mucosa intestinal, suprimindo respostas imunitárias anómalas contra a microbiota. Na DII verifica-se uma diminuição da atividade anti-inflamatória das células Treg contribuindo para o surgimento de respostas imuno-inflamatórias aberrantes.^[15] As células Th1, Th2 e Th17 libertam citocinas pró-inflamatórias.^[15] As células Th1 libertam IFN-γ que induz a apoptose dos enterócitos e estimula a libertação de TNF-α por parte dos macrófagos. O TNF-α, por sua vez, promove a diferenciação de células do estroma em miofibroblastos que vão produzir metaloproteinasas (MMPs) responsáveis pela degradação da matriz extracelular e da membrana basal, induzindo a morte celular programada dos enterócitos.^[15] As células Th2 libertam IL-13, uma citocina que atua nas células epiteliais intestinais induzindo a sua diferenciação em fibroblastos e miofibroblastos e provocando a sua apoptose.^[15] As células Th17 libertam a citocina IL-17A que está envolvida no recrutamento de neutrófilos para o local de inflamação e induz a libertação de outras citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos, com consequente morte de vários enterócitos e aumento da permeabilidade intestinal.^[15]

Quando o meio intestinal se encontra inflamado, os macrófagos e fibroblastos aumentam a expressão do NF-kB. O NF-kB é responsável pela produção e secreção de mais citocinas pró-inflamatórias que provocam mais lesões na mucosa e estimulam ainda mais a ativação e diferenciação de células imunes na lamina própria fazendo com que o estado inflamatório se perpetue.^[16] Além disso, existe uma relação entre a ativação do NF-kB e o aumento da expressão da molécula de adesão intercelular-1 (ICAM-1) que é responsável pelo recrutamento de várias células imunes para o local da inflamação.^[3, 16] Para além disso, os macrófagos e outras células fagocíticas também libertam grandes quantidades de espécies reativas de oxigénio (ROS).^[6] As ROS são formadas devido à presença de uma enzima, a NADPH oxidase, que reduz o oxigénio molecular formando radical superóxido e outros radicais livres, quando as células fagocíticas entram em contacto com microrganismos estranhos. Estas ROS têm uma ação bactericida essencial para eliminar os microrganismos fagocitados pelos macrófagos através de um mecanismo designado *burst* oxidativo. Para além disso, as ROS regulam a produção de citocinas nos macrófagos através da ativação da via NF-kB levando à libertação de TNF- α por parte dos macrófagos.^[17] Apesar das ROS desempenharem um papel importante na resposta imunológica, em situações de excesso de produção, a sinalização redox é interrompida e desenvolve-se um estado de *stress* oxidativo. Neste estado as células imunes libertam elevadas quantidade de ROS que vão provocar a peroxidação lipídica das membranas celulares levando ao aumento da permeabilidade celular ou podendo mesmo provocar a sua lise. Este processo vai alterar a estrutura da barreira epitelial tornando-a mais permeável permitindo a migração de bactérias do cólon para a submucosa.^[18]

A juntar a estes fatores, é de acrescentar a influência genética no desenvolvimento da DII. Existem indivíduos que apresentam alterações em alguns genes tornando-os suscetíveis à doença.^[11] Até hoje já foram identificados 163 loci de suscetibilidade na DII sendo que 30 são específicos da DC, 23 da CU e 110 estão presentes em ambas as doenças. Mutações nestes genes influenciam a estabilidade da barreira epitelial como também a resposta imune intestinal.^[3, 11] De entre os 163 loci de genes, são de destacar o NOD2, ATG16L, PTGER4 e o NCF4.

O gene NOD2 parece estar envolvido no processo inflamatório uma vez que mutações neste gene estão associadas a uma diminuição da libertação de alfa-defensinas pelas células de Paneth e diminuição da expressão de NF-kB por parte das células epiteliais.^[11] Por conseguinte, as células epiteliais produzem e libertem menos agentes antimicrobianos que são importantes para a eliminação de microrganismos existentes na mucosa intestinal.^[15] Além disso, mutações

no gene NOD2 podem promover uma resposta exagerada das vias de sinalização dependentes dos recetores *Toll-like*, ocorrendo uma ativação excessiva de células Th1, Th2 e Th17.^[15]

Por outro lado, o gene NOD2 mas também o ATG16LI são responsáveis pela indução da autofagia.^[11] A autofagia é um mecanismo que permite manter a homeostase celular. É responsável pela degradação e reciclagem de organelos e é importante na defesa do organismo removendo microrganismos intracelulares. Mutações naqueles dois genes vão impedir que os processos de autofagia decorram normalmente, comprometendo assim a homeostase celular e promovendo a gênese de eventos inflamatórios.^[11]

O gene NCF4 desempenha um papel importante na função das células fagocíticas. Este gene codifica uma proteína, p40phox, que corresponde a uma das subunidades da NADPH oxidase.^[19] Mutações neste gene vão comprometer a formação de ROS que desempenham um papel importante na eliminação de microrganismo fagocitados. Com a diminuição de ROS, os microrganismos fagocitados não serão eliminados levando ao aumento de microrganismos patogénicos no lúmen intestinal. Se a barreira epitelial estiver comprometida, estes microrganismos conseguem infiltrar-se e ativam células imunitárias ocorrendo um aumento do estado inflamatório.^[7]

O gene PTGER4, situado no loci 5p13.1, é responsável pela expressão do recetor das prostaglandinas EP4 nas células epiteliais do intestino. Mutações do gene PTGER4 conduzem ao aumento da expressão deste recetor a nível da mucosa intestinal, havendo um aumento da produção de prostaglandinas E2 que, sendo uma molécula pró-inflamatória, vai causar danos celulares e alterar a estrutura da barreira epitelial tornando-a mais permeável e, assim, favorecendo o aparecimento da DII.^[7, 20]

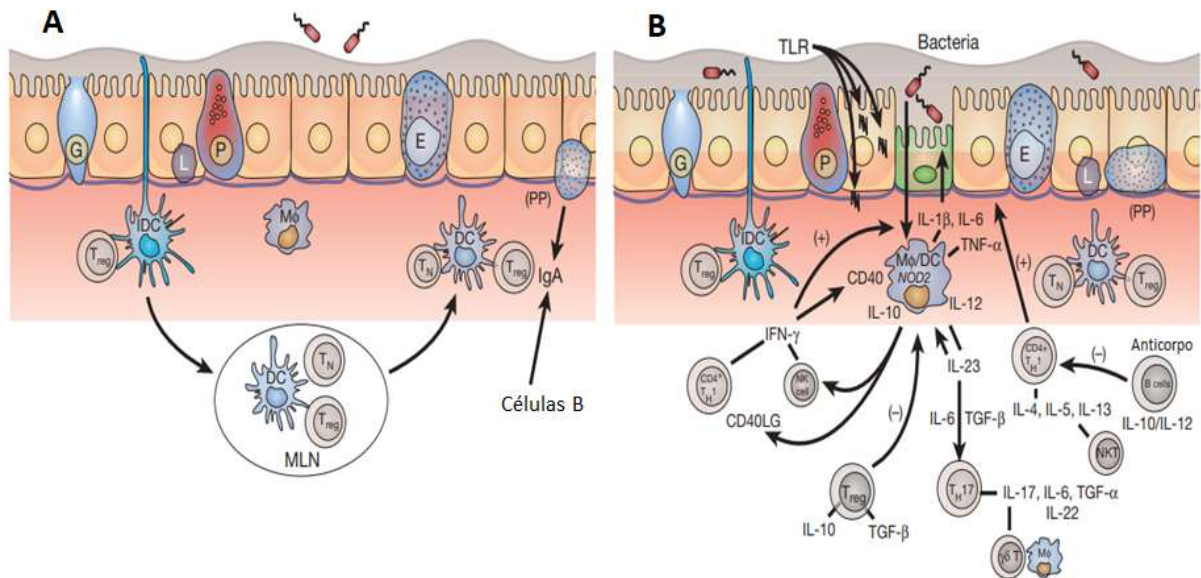


Figura 3: Resposta imunológica da mucosa intestinal à microbiota e à dieta. A. Na situação de colón saudável. B. Na situação de colón inflamado. G, célula calciforme; L, linfócito; P, célula de Paneth; E, enterócito; PP, Peyer's; IgA imunoglobulina A; DC, célula dendrítica; T_N, células T naive; M^φ, macrófago; MLN, Linfonodo mesentérico; NK, Natural Killer. Retirado de [7].

3.1. Tratamento

A DII permanece até hoje como uma doença incurável, muito provavelmente porque a sua etiologia ainda não está bem esclarecida. Assim, o objetivo do tratamento é reduzir a inflamação intestinal, mitigar ou eliminar os sinais e sintomas da doença, diminuir o número de recorrências e aumentar o período de remissão. Desta forma, pretende-se evitar complicações, hospitalizações e cirurgias, evitar a progressão da doença e diminuir as interferências que esta tem no quotidiano do doente e na sua qualidade de vida.^[1]

O arsenal terapêutico atualmente aprovado inclui moléculas de pequeno peso molecular e moléculas biológicas.^[3] As moléculas de pequeno peso molecular são estáveis, têm um custo de produção baixo comparativamente às moléculas biológicas e são administradas por via oral, o que aumenta a adesão ao tratamento.^[3] Fazem parte deste grupo terapêutico os aminosalicilatos, como a messalazina, que inibe a migração de macrófagos intestinais parando a inflamação ativa no intestino. É útil no tratamento de surtos como também na manutenção da remissão.^[3] Além disso, os corticosteroides, como a budesonida, suprimem a resposta inflamatória através da estimulação da lipocortina que vai inibir a fosfolipase A2 impedindo a formação de ácido araquidónico interrompendo a formação de prostaglandinas.^[21] Alivia os sintomas de uma forma rápida, mas não intervêm na manutenção da remissão.^[1] Ainda neste grupo, são de referir os imunomoduladores, como por exemplo a azatioprina, que inibe não só a proliferação de linfócitos mas também desempenha um papel na indução da apoptose dos linfócitos.^[3]

As moléculas biológicas são mais complexas, mais imunogénicas e têm um custo de produção mais elevado. São um tratamento opcional quando o tratamento com as moléculas de pequeno peso molecular não resulta. Este grupo de moléculas é formado por citocinas recombinantes, anticorpos monoclonais e antagonistas específicos de citocinas.^[3] Como exemplos são de referir o infliximab e o adalimumab, anticorpos monoclonais do TNF- α que impedem a ligação ao recetor, inibindo a resposta inflamatória. Por outro lado, o vedolizumab liga-se à integrina $\alpha 4\beta 7$, expressa à superfície das células endoteliais intestinais, impedindo a migração de leucócitos para o intestino.^[3]

Para além destas moléculas, existem estratégias terapêuticas complementares que incluem antibióticos, probióticos, dietas específicas e transplante fecal.^[9]

A monitorização da doença e a adesão ao tratamento ajudam a melhorar a qualidade de vida do doente.^[6] De contrário, e muitas vezes apesar disso, a doença pode progredir levando ao aparecimento de algumas complicações como hemorragias, perfurações intestinais, abscessos, estenoses, obstruções, fístulas e lesões perianais muitas das quais requerem tratamento hospitalar e eventualmente cirúrgico.^[1,5]

4. Óxido Nítrico

O $\cdot\text{NO}$ é um radical livre gasoso, com características lipofílicas, capaz de atravessar as membranas biológicas, com uma reatividade limitada e um tempo semivida curto devido à afinidade que tem com a hemoglobina, que o converte rapidamente em nitrato e nitrito.^[22,23]

É uma molécula de sinalização que intervém de forma seletiva e específica em várias vias de sinalização celular. A sua via de sinalização cardinal compreende a ativação da guanilato ciclase (sGC) formando guanosina monofosfato cíclico (GMPc). Esta via é possível devido à interação do $\cdot\text{NO}$ com o ferro do grupo heme da proteína.^[23]

Estão descritas duas vias de síntese do $\cdot\text{NO}$: a via da L-arginina (enzimática) e a via nitrato-nitrito- $\cdot\text{NO}$ (não enzimática).^[22]

4.1. Via L-arginina-óxido nítrico

O $\cdot\text{NO}$ tem como precursor a L-arginina. A L-arginina é um aminoácido importante para a síntese de proteínas e é produzido pelo epitélio do intestino, fígado e rim.^[6] Para a conversão da L-arginina em $\cdot\text{NO}$ é necessária uma das isoformas da enzima óxido nítrico sintase (NOS), 2 co-substratos (oxigénio e o NADPH) e 3 cofatores (tetra-hidrobiopterina (BH4), o dinucleótido de flavina-adenina (FAD) e mononucleótido flavina (FMN)).^[24] Existem 3 isoformas de NOS: NOS endotelial (eNOS), a NOS neuronal (nNOS) e NOS indutiva (iNOS).

Estas enzimas são constituídas por dois monómeros, sendo que cada um contém um domínio redutase, no qual se liga o FMN, o FAD e o NADPH, e um domínio oxigenase, onde se encontra ligado o grupo heme e onde se liga a BH4. A fusão dos dois monómeros num dímero é essencial para que a enzima seja funcional.^[25] Para que ocorra a conversão da L-arginina em NO , é necessária a presença do cofator BH4 e da proteína calmodulina (CaM).^[25] O cofator BH4 transfere elétrons para o grupo heme, que são necessários para a ativação do oxigênio^[25] e a CaM liga-se ao domínio redutase dos monómeros e aumenta a transferência de elétrons dentro desse domínio.^[24] A ligação da CaM à NOS é feita em ambientes diferentes devido às isoformas apresentarem domínios de ligação diferentes. Nas eNOS e nNOS a ligação depende das concentrações de cálcio (sendo que só ocorre quando estas são elevadas), enquanto que na iNOS é independente da concentração de cálcio e a ligação pode inclusivamente ser feita na ausência deste.^[24] Quando existe quantidade suficiente de L-arginina e de oxigênio, os monómeros da NOS transferem elétrons do NADPH através das flavinas FAD e FMN do domínio da redutase do terminal carboxil para o heme do domínio oxigenase do terminal amina, ocorrendo a redução do oxigênio em superóxido e oxidação da L-arginina em duas etapas: uma em que a L-arginina é oxidada em nitroarginina e outra em que a nitroarginina é oxidada a NO e L-citrulina.^[24]

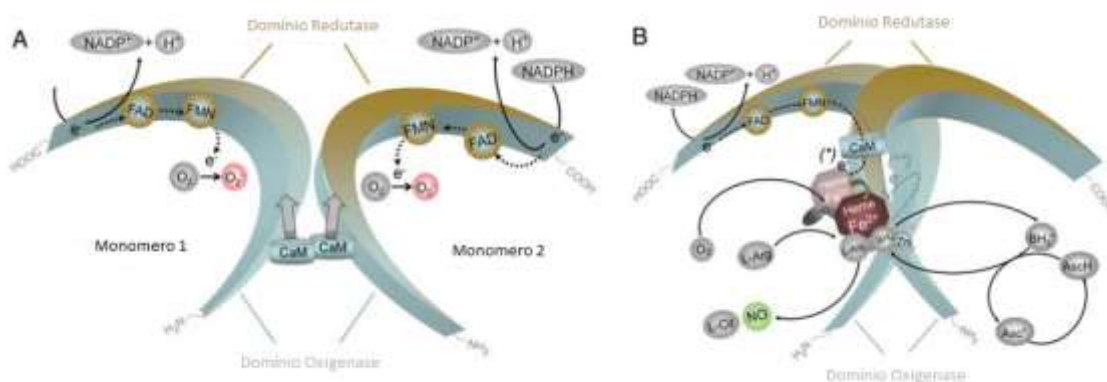


Figura 4: A: Estrutura e mecanismo catalítico da enzima NOS. B: Reações redox envolvidas na via enzimática da síntese de NO a partir de L-arginina. Retirado de [24].

As isoformas de NOS apresentam diferenças entre si no local onde são expressas e nas funções que desempenham.

A nNOS é expressa nos neurónios e é responsável pela plasticidade sináptica do sistema nervoso central, pelo relaxamento do musculo liso e consequente vasodilatação a nível do corpo cavernoso, induzindo a ereção peniana. A iNOS é expressa nos macrófagos e neutrófilos e está envolvida na fisiopatologia de doenças inflamatórias e choque séptico. A

eNOS encontra-se nas células endoteliais e está envolvida no mecanismo de vasodilatação, controla a pressão arterial e tem efeitos vasoprotetores e anti-ateroscleróticos.^[24]

4.2. Via Nitrato-Nitrito-Óxido nítrico

Na década de 1990, descobriu-se que o NO não é apenas sintetizado pela via das NOS mas que existe uma outra via que envolve a redução de nitrato e de nitrito.^[23] Existem alimentos, como os vegetais de folha verde, que são ricos em nitrato. Após o consumo destes alimentos, o nitrato é absorvido no intestino e passa para a circulação sistêmica misturando-se com o nitrato proveniente da oxidação do NO sintetizado pela via da L-arginina. Cerca de 25% deste nitrato é transportado para as glândulas salivares sendo secretado na cavidade oral. Este trajeto do nitrato corresponde à circulação enterosalivar. Na cavidade oral existem bactérias anaeróbias facultativas que expressam enzimas redutase de nitrato. Estas enzimas reduzem o nitrato a nitrito ao mesmo tempo que produzem ATP, essencial para respiração bacteriana em situações de baixa pressão de oxigênio. O nitrito formado mistura-se com a saliva e é deglutido, chegando ao estômago onde, devido ao pH ácido, é protonado a HNO_2 que se decompõe espontaneamente em NO . Esta reação de redução é potenciada na presença de agentes redutores como o ácido ascórbico e polifenóis da dieta.^[23, 26, 27]

Para além do estômago, o nitrito pode ser reduzido em NO na circulação sistêmica e nos tecidos em situações de hipoxia.^[27] O nitrito pode ter distintas origens, desde a dieta, a oxidação de NO formado pela NOS ou na redução de nitrato por redutases da xantina ou pelas bactérias existentes na cavidade oral. Este nitrito é absorvido no intestino, passando para a corrente sanguínea onde é reduzido a NO por várias proteínas e enzimas presentes no sangue e nos tecidos, como a xantina oxidoreductase, a desoxihemoglobina, desoximioglobina e outras globinas, citocromo P450, proteínas mitocondriais, anidrase carbônica, aldeído oxidase, eNOS mas também por polifenóis e vitaminas E e C.^[23, 27] Como já referido, a redução do nitrito é potenciada em situações de hipoxia e de pH baixo,^[23, 27] motivo pelo qual, do ponto de vista fisiológico, adquire especial relevância precisamente nestas condições, em que a síntese de NO pelas NOS se encontra limitada uma vez que o oxigênio é necessário à reação enzimática. Assim, é possível assegurar uma produção contínua de NO desde que haja um aporte de nitrato e/ou nitrito.^[23]

4.3. Efeitos fisiológicos do NO

O NO desempenha funções reguladoras em vários sistemas do organismo. No sistema nervoso regula a função dos neurónios^[28] e funciona como um neurotransmissor no sistema nervoso periférico, atuando como relaxante do músculo liso, nomeadamente no intestino e no corpo carvenoso.^[24] No sistema cardiovascular, desempenha funções importantes na regulação da pressão arterial e na prevenção da aterosclerose. O NO promove o relaxamento do músculo liso vascular promovendo a vasodilatação e a regulação da pressão arterial e inibe a adesão e agregação quer plaquetar, quer de leucócitos à parede vascular, bem como a expressão de genes que codificam proteínas envolvidas na aterogénese.^[24, 28] No TGI, o NO induz a produção de muco, através da estimulação da sGC nas células epiteliais e o aumento do fluxo sanguíneo que é importante para a formação de uma camada protetora de muco que impede os microrganismos da microbiota de atingir as células epiteliais.^[29]

Existe também a hipótese de o NO modular a microbiota intestinal, auxiliando o regresso ao equilíbrio bacteriano depois de um estado de disbiose^[30] ao mesmo tempo que tem um efeito cicatrizante da mucosa através do aumento do fluxo sanguíneo, do aumento da deposição de colagénio por parte dos fibroblastos e da estimulação da proliferação de células epiteliais.^[28, 29]

Relativamente ao sistema imune, o NO desempenha um papel fisiológico e fisiopatológico dependendo da via de síntese e da quantidade presente. O NO resultante da ação da iNOS, promove a ativação de cascatas de sinalização associadas à inflamação tecidual que, apesar de permitirem a eliminação de microrganismos patogénicos e células tumorais, quando se encontra em quantidades elevadas causa danos nas células saudáveis.^[24] O NO sintetizado a partir da eNOS, da nNOS e da redução de nitrato e nitrito diminui a expressão de leucócitos, de plaquetas e de moléculas de adesão (ICAM-1 e a p-selectina) como também diminui a produção e libertação de citocinas pró-inflamatórias. Estas ações inibem a adesão de leucócitos à mucosa, impedindo a migração de células imunes dos vasos sanguíneos para a lamina própria do intestino e diminuindo a ativação de macrófagos e a produção de citocinas pelas células Th1, evitando que se crie um ambiente inflamatório local.^[13, 26]

5. Ação do NO na Doença Inflamatória Intestinal

Comparando os efeitos fisiológicos do NO no sistema GI e a fisiopatologia da DII, verifica-se que o NO obtido a partir do nitrato da dieta poderá ser usado como uma nova forma de prevenção do aparecimento de lesões inflamatórias intestinais, aumentando o tempo de remissão ou, em alternativa, no tratamento da inflamação ajudando no restabelecimento

da barreira epitelial. Em anos recentes, foram realizados vários estudos para testar esta hipótese. De seguida serão mencionados alguns desses estudos com o objetivo de verificar se o uso do NO nesta situação poderá trazer ou não benefícios no controlo e tratamento da DII.

6. Estudo n.º I ^[13]

Objetivos

1) investigar os efeitos da suplementação de nitrato e nitrito na prevenção e no tratamento da DII usando um modelo experimental de colite. 2) Determinar o papel desempenhado pelo nitrito na integridade da mucosa do colón e na cicatrização tecidual.

Protocolo

Foi induzida colite em murganhos através da administração de 2 e 2,5% de sulfato de dextrano de sódio (DSS) na água, durante 7 dias.

Foram realizados três desenhos experimentais.

No primeiro foi avaliado o potencial efeito preventivo do nitrato e do nitrito. Foram formados quatro grupos:

- Grupo 1: Controlo - água.
- Grupo 2: DSS - adição de 2% de DSS na água durante 7 dias.
- Grupo 3: DSS + nitrito - adição de 2% DSS + 1 mM nitrito na água durante 7 dias.
- Grupo 4: DSS + nitrato - adição de 2% DSS + 10 mM nitrato na água durante 7 dias.

As concentrações de nitrito e nitrato usadas representam a dose após a ingestão de vegetais de folhas verdes nos humanos, diminuindo as diferenças farmacocinéticas entre os murganhos e o homem.

No segundo, foi avaliado o potencial efeito terapêutico do nitrito. Foram formados três grupos:

- Grupo 1: Controlo - água
- Grupo 2: DSS - adição de 2,5% de DSS na água durante 7 dias.
- Grupo 3: DSS + nitrito - adição de 2,5% DSS na água do dia 1 ao dia 3 e adição de 2,5% DSS + 1 mM nitrito na água do dia 4 ao dia 7.

A adição de nitrito só foi iniciada após a observação de sinais de doença (diarreia e sangramento retal) que neste estudo ocorreram a partir do dia 3.

No terceiro, foi avaliado o potencial cicatrizante do nitrito. Foram utilizadas linhas celulares de colonócitos humanos SW480. Após cultivo e obtenção de confluência, foi feita uma incisão reta na monocamada utilizando a ponta de uma pipeta estéril. De seguida adicionou-se 1 mM de nitrito. A monitorização da cicatrização da ferida foi feita durante 24 horas.

De modo a demonstrar se o papel cicatrizante se devia ao nitrito ou ao $\cdot\text{NO}$, num segundo grupo foi adicionando um *scavenger* do $\cdot\text{NO}$ (cPTIO) uma hora antes da adição de nitrito.

Durante os 7 dias do estudo, os murganhos foram pesados diariamente e foi feito o controlo da existência de diarreia, sangue oculto nas fezes e sangramento retal. Foi também calculado o índice da atividade da doença (DAI). Este índice permite avaliar o grau e a extensão da inflamação intestinal tendo por base um sistema de pontuação, que varia entre 0 e 4, e que corresponde à soma das pontuações relativas à perda de peso, à consistência das fezes e à presença de sangue oculto nas fezes ou sangramento retal (Anexo 1).^[31]

No final dos 7 dias foi feita a medição do comprimento do cólon e da espessura da camada de muco interna, foram avaliados os níveis de iNOS, de NF-kB e de MUC2 e quantificado o número de células caliciformes.

Resultado

Tabela 2: Resultados do estudo

	Desenho experimental 1	Desenho experimental 2
DSS	<ul style="list-style-type: none"> - Redução de 30% do comprimento do cólon em relação ao grupo controlo; - Aumentou significativo da pontuação DAI. 	<ul style="list-style-type: none"> - Redução do comprimento do cólon; - Aumento da pontuação DAI; - Aumento da expressão de iNOS; - Presença de lesões histopatológicas como atrofia das criptas, influxo de células imunes e ulceração da superfície epitelial; - Redução da camada de muco interna; - Diminuição do número de células caliciformes; - Aumento da expressão de Muc2.
DSS + Nitrito	<ul style="list-style-type: none"> - Redução da pontuação DAI; - Comprimento do colon inalterado após adição de DSS em relação ao controlo; - Diminuição da expressão de iNOS e da subunidade p65 de NF-kB no cólon. 	
DSS + Nitrito	<ul style="list-style-type: none"> - Pontuação de DAI 70% menor do que a do grupo DSS; - Redução do encurtamento do cólon. 	<ul style="list-style-type: none"> - Redução do encurtamento do cólon; - Redução da pontuação de DAI em 60 % em relação ao grupo DSS; - Diminuição da expressão de iNOS; - Redução das lesões histopatológicas; - Mantida espessura do muco encontrada nos controlos; - Número de células caliciformes idênticas ao do controlo; - Diminuição da expressão de Muc2;

Não foram observadas diferenças no consumo de água entre os grupos.

Avaliação do potencial papel cicatrizante do nitrito:

Grupo 1 (apenas de nitrito): Aumento da cicatrização das células com nitrito em 24 horas após a incisão comparativamente às células em que não foi adicionado nitrito.

Grupo 2 (Nitrito + cPTIO): diminuição do efeito de cicatrização.

Grupo 3 (apenas cPTIO): não se verificou nenhum efeito na cicatrização das lesões.

Conclusão

Com os resultados obtidos deste estudo podemos observar que o nitrito apresenta um potencial efeito preventivo e terapêutico na inflamação do cólon preservando a camada interna do muco, diminuído a expressão de marcadores inflamatórios (iNOS) e revertendo lesões histopatológicas características da colite. Em relação ao nitrato, os seus resultados não se mostram tão vantajosos quanto os do nitrito sendo que são necessários mais estudos para justificar estas diferenças.

Quanto ao efeito do nitrito no número de células caliciformes e na expressão de Muc2, o seu resultado foi um pouco contraditório, no sentido de que apesar do nitrito manter o número de células caliciformes em relação ao grupo DSS, onde ocorre uma diminuição, há uma maior expressão de Muc2 no grupo DSS do que no grupo de DSS + nitrito. Uma possível explicação para este resultado será um mecanismo de compensação em que com a diminuição do número de células caliciformes e a destruição da camada de muco interna, haverá uma maior expressão de Muc2 de forma a compensar esta perda.

Outra conclusão que podemos retirar deste estudo é a de que o NO poderá ser um cicatrizante, na medida em que sem a adição de cPTIO houve um aumento na capacidade de cicatrização das células, mas na sua presença esta capacidade diminui, indicando que provavelmente o nitrito não é diretamente responsável por este efeito, mas sim o NO .

7. Estudo n.º 2 ^[32]

Objetivo

Determinar os efeitos que a suplementação de nitrato e nitrito têm no recrutamento de leucócitos na inflamação microvascular e na lesão intestinal provocada por AINEs.

Protocolo

1º experiência - avaliação do efeito do nitrito no recrutamento de leucócitos através da medição do número de leucócitos residentes na mucosa e recrutados da circulação.

Foi induzido o recrutamento de leucócitos no músculo cremáster dos murganhos com a adição endovenosa da quimiocina MIP-2. Após a indução, estes murganhos foram divididos em dois grupos: controlo (sem adição de nitrito) e nitrito (adição de MIP-2 + 1.3 mg/Kg de nitrito por IV).

2º experiência - avaliação do efeito do nitrito na expressão de ICAM-1

Foi induzido em células endoteliais microvasculares da derme humana, a expressão de ICAM-1 através da adição de 10 ng/mL de TNF- α por 24 horas. Estas células foram de seguida divididas em dois grupos: grupo controlo (sem adição de nitrito) e grupo nitrito (adição de três concentrações diferentes de nitrito - 1, 10 e 100 μ M).

3º experiência - avaliação do efeito do nitrato no recrutamento de leucócitos através da medição do número de leucócitos

Mais uma vez, foi induzido o recrutamento de leucócitos em murganhos através da adição endovenosa da quimiocina MIP-2 no musculo cremáster.

Após a indução, estes murganhos foram divididos em dois grupos: controlo (sem adição de nitrato) e nitrato (adição de 0,85 g/L de nitrato em água por 7 dias).

4º experiência - avaliação do efeito do nitrato na infiltração tecidular de leucócitos através da medição da atividade da mieloperoxidase (MPO: peroxidase derivada de leucócitos responsável pela formação de ROS).

Foi induzida a infiltração tecidular de neutrófilos em murganhos através da adição de 60 mg/kg de diclofenac. Estes murganhos foram posteriormente divididos em dois grupos sendo que num deles, 7 dias antes do tratamento com diclofenac, foi administrado nitrato (0,85 g/L) na água, por 7 dias. No outro grupo não foi adicionado nada. Finalmente, no terceiro grupo, não foi adicionado nem diclofenac nem nitrato (controlo). Depois do tratamento (17-19 horas) com diclofenac foram medidos os níveis de MPO.

5º experiência - avaliação do efeito do nitrato na regulação de P-selectina

A P-selectina foi usada neste estudo como marcador de inflamação e da ativação indireta de leucócitos. Foram formados quatro grupos de murganhos:

Grupo 1: Controlo - água do bebedouro.

Grupo 2: Nitrato - foram administrados 0,85 g/L de nitrato em água por 7 dias.

Grupo 3: Diclofenac - foi induzida a inflamação intestinal em murganhos através da adição de 30 mg/kg de um AINE (diclofenac).

Grupo 4: Diclofenac + Nitrato - foram administrados 0,85 g/L de nitrato através da água por 7 dias. Após os 7 dias foi induzida a inflamação intestinal em murganhos através da adição de 30 mg/kg de um AINE (diclofenac).

Paralelamente a este desenho foi feito outro igual sendo que a única diferença foi a adição anti-séptico bucal duas vezes por dia durante uma semana. Este desenho foi realizado com o intuito de estudar a importância da microbiota oral na bioativação do nitrato. Dezasete a 19 horas depois do tratamento com diclofenac foram medidos os níveis de P-selectina.

Resultado

1º experiência: o grupo nitrato apresentou uma redução de 50 – 70% em relação ao grupo controlo, no número de leucócitos recrutados e presentes na mucosa.

2º experiência: verificou-se uma diminuição da expressão de ICAM-1 no grupo em que foi adicionado nitrato. Esta diminuição é dependente da dose de nitrato sendo que quanto maior a dose de nitrato adicionado menor é a expressão de ICAM-1.

3º experiência: Ocorreu uma diminuição de 70% no grupo nitrato em relação ao grupo controlo no número de células recrutadas. O número de células ativadas e presentes no musculo cremaster foi idêntico em ambos os grupos.

4º experiência: O diclofenac levou a um aumento dos níveis de MPO (3 µg/g), demonstrando um aumento da infiltração de leucócitos a nível intestinal. Com o pré-tratamento com nitrato, os níveis de MPO foram mais baixos (0.6 µg/g).

5º experiência: No primeiro desenho experimental, observou-se um aumento dos níveis de P-selectina a nível intestinal provocadas pelo diclofenac (8 ng anticorpo de P-selectina/g tecido). Na presença de nitrato, houve uma redução grande nos níveis de P-selectina sendo inferiores aos níveis do controlo (1 ng anticorpo de P-selectina/g tecido vs 1,5 ng anticorpo de P-selectina/g tecido).

Com a utilização do anti-séptico oral, o efeito do nitrato foi diminuído, pois a diminuição dos níveis de P-selectina foi menor à que se verificou sem o anti-septico bucal (3 ng anticorpo de P-selectina/g tecido).

Conclusão

Com este estudo foi possível concluir, que a suplementação de nitrato apresenta um efeito anti-inflamatório. Isto porque, na presença de nitrato e nitrito, verificou-se a diminuição do número de leucócitos ativos e recrutados, uma redução da expressão de ICAM-1 nas células endoteliais e dos níveis de MPO e P-selectina no intestino após a indução de inflamação.

Para além disso foi demonstrado que as bactérias da cavidade oral são necessárias para a redução do nitrato e que o nitrito é um intermediário importante neste processo.

8. Estudo n.º 3 ^[30]

Objetivo

Verificar se o nitrato inorgânico desempenha algum papel protetor na colite e na regulação da microbiota intestinal

Protocolo

Foi induzida colite experimental em murganhos com a administração de 3% de DSS através de água durante 5 dias. 5 dias antes da administração de DSS foi administrado 2 mM de nitrato por via oral, dissolvido na água.

Foram formados quatro grupos:

- Grupo 1: Controlo - adição de NaCl na água.
- Grupo 2: DSS - adição de 3% de DSS na água do dia 6 ao dia 11.
- Grupo 3: DSS + NaCl - adição de NaCl na água do dia 1 ao dia 5 e adição de 3% DSS + NaCl na água do dia 6 ao dia 11
- Grupo 4: DSS + Nitrato - adição de 2 mM de nitrato na água do dia 1 ao dia 5 e adição de 3% DSS + 2 mM de nitrato na água do dia 6 ao dia 11

Durante todo o período experimental os animais foram pesados e as suas fezes foram analisadas tendo em conta a sua consistência e a presença de sangue. Com base nestes dados foi calculado o DAI no período de tempo em que foi administrado o DSS.

No dia 11 procedeu-se à medição do comprimento do cólon, à contagem de leucócitos e linfócitos, à percentagem de células Th em circulação, à avaliação da taxa de apoptose das células epiteliais do cólon através da expressão da caspase 3 (molécula associada à indução da

apoptose celular) e à avaliação do grau de infiltração de células inflamatórias tendo em conta os níveis de IL-17.

Foram também colhidas amostras de fezes para avaliar o perfil da microbiota intestinal.

Resultado

- Proteção da Colite

Tabela 3: Resultados do estudo

	Controlo	DSS	DSS + NaCl	DSS + Nitrato
Fezes	Sólidas e sem sangue	Líquidas e com sangue	Líquidas e com sangue	Sólidas e sem sangue
Peso corporal	Normal	Diminuição	Diminuição	Manteve-se
DAI	Baixo	Elevado	Elevado	Baixo
Comprimento do Colón	Normal	Houve um encurtamento	Houve um encurtamento	Recuperação do comprimento perdido
Sintomas	Nenhum	Hiperemia e edema	Hiperemia e edema	Alívio dos sintomas
Nº de leucócitos e linfócitos	Normal	Aumento	Aumento	Diminuição
Localização dos linfócitos	Camada mucosa	Infiltração na camada submucosa	Infiltração na camada submucosa	Camada mucosa
% de células Tregs	9,6% das células T CD4 ⁺	6,5% das células T CD4 ⁺	6,8% das células T CD4 ⁺	8,8% das células T CD4 ⁺
% de células Th1	1,7% das células T CD4 ⁺	4,9% de todas as células T CD4 ⁺	4,4% de todas as células T CD4 ⁺	1,9% das células T CD4 ⁺
% de células Th2	3,7% das células T CD4 ⁺	1,8% das células T CD4 ⁺	2,4% das células T CD4 ⁺	3,4% das células T CD4 ⁺
% de células Th17	2,7% das células T CD4 ⁺	4,6% das células T CD4 ⁺	3,8% das células T CD4 ⁺	2,9% das células T CD4 ⁺
Expressão de caspase 3	Normal	Aumentou	Aumentou	Diminui
Níveis de IL-17	Normal	Aumentou	Aumentou	Diminui

- Regulação da microbiota

Analisando a Figura 5, podemos observar uma variação de géneros entre os quatro grupos.

Considerando o grupo controlo, como representativo da microbiota intestinal dos murganhos com ausência de doença, na presença de DSS há uma diminuição de espécies comensais e o aparecimento de géneros que podem ser considerados patogénicos que eventualmente poderão atuar como gatilhos da inflamação. Com a adição de nitrato, ainda é visível uma grande diversidade de géneros em relação ao controlo, sendo que ocorre o

aumento da percentagem de alguns géneros como *Lactobacillus* e a *Bacteroidetes* e a diminuição de outros como o género *Helicobacter* e *Parabacteroides* em relação aos grupos com DSS.

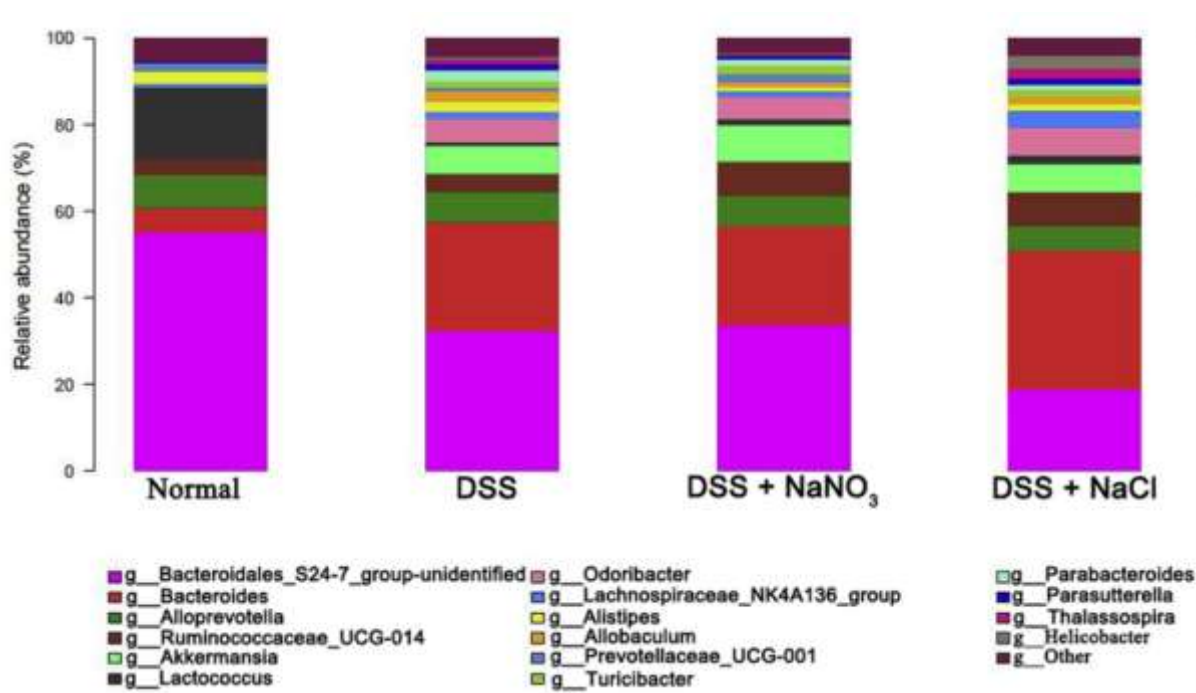


Figura 5: % relativa de géneros bacterianos constituintes da microbiota nos diferentes grupos de estudo.

Conclusão

Os resultados obtidos permitem concluir que o nitrato obtido através da dieta melhora a colite experimental induzida por DSS.

A adição de nitrato não só tendeu a normalizar o comprimento do cólon e do peso corporal dos murganhos como também melhorou alguns sinais clínicos de doença como presença de fezes líquidas e com sangue, com consequente diminuição do DAI.

A nível da resposta inflamatória, no grupo de DSS + nitrato, ocorreu a diminuição de células Th1 e Th17 e da IL-17 e o aumento das células Th2 e Treg. Para além disso, o nível de caspase 3 diminuiu, o que indica que o nitrato apresenta efeitos anti-inflamatórios e anti-apoptóticos.

Em relação à microbiota intestinal, a toma de DSS levou ao aumento da diversidade de géneros em relação ao controlo, ocorrendo a diminuição de alguns géneros importantes para a homeostase como os *Lactobacillus* e os *Bacteroidetes*, e o aumento de espécies patogénicas como a *Helicobacter* e o *Parabacteroides*. O nitrato permitiu reverter estas alterações, no entanto, não houve a retoma da microbiota existente no controlo, ainda havendo a presença de uma grande diversidade de géneros alguns deles patogénicos.

9. Estudo n.º 4 ^[33]

Objetivo

Descobrir o possível papel terapêutico que a suplementação de nitrito pode ter na DII usando um modelo experimental de colite

Protocolo

Foi induzida colite experimental em murganhos com a administração de 2,5 a 3% de DSS através da suplementação na água durante 7 dias.

Os murganhos foram divididos em quatro grupos:

- Grupo 1: Controlo - água.
- Grupo 2: DSS - adição de 2,5% de DSS em água durante 7 dias.
- Grupo 3: Nitrito - adição de 25 mM nitrito em água durante 7 dias.
- Grupo 4: DSS + nitrito - adição de 25 mM nitrito em água no dia -1 e adição de 3% DSS + 25 mM nitrito em água durante 7 dias.

Durante todo o período experimental os animais foram pesados e as suas fezes foram analisadas tendo em conta a sua consistência e a presença de sangue e com base nestes dados foi calculado o DAI. Ao sétimo dia, foi medido o comprimento do cólon, o hematócrito, o grau de lesão da mucosa intestinal (Anexo 2), quantificada a atividade da MPO, a concentração de TNF- α e a expressão da iNOS. Aos terceiro e sétimo dias foi quantificada a hemoglobina e a meta-hemoglobina, bem como a pressão arterial sistólica e a frequência cardíaca, com objetivo de determinar a existência de efeitos colaterais devido à utilização de uma concentração alta de nitrito relativamente à concentração necessária para mimetizar a concentração atingida após a ingestão de vegetais no homem.

Resultado

Tabela 4: Resultados do estudo

DSS	DSS + Nitrito
<ul style="list-style-type: none">- Perda de peso;- Presença de sangue nas fezes a partir do dia 4;- Aumento significativo do DAI entre o dia 4 e 7;- Redução dos valores do hematócrito devido à perda de sangue pelas fezes;- Encurtamento do cólon;- No dia 7, perda de criptas intestinais por todo o cólon e infiltração de células inflamatórias na mucosa;- Aumento da atividade da MPO;- Dia 3, aumento da expressão de TNF-α.- Dia 7, aumento da expressão TNF-α e iNOS	<ul style="list-style-type: none">- Diminuição do DAI em comparação com o grupo DSS;- Restabelecimento do comprimento do cólon;- Menor exacerção histológica comparativamente ao grupo DSS;- Diminuição da atividade da MPO;- Reversão dos valores de TNF-α e iNOS para os valores normais observados no controlo.

A dose de nitrito usada neste estudo (25 mM), não provocou alterações na pressão arterial sistólica nem na frequência cardíaca. Para além disso esta dose também não influenciou os níveis de hemoglobina. Contudo verificou-se no sétimo dia um aumento dos níveis de meta-hemoglobina nos grupos suplementados com nitrito.

Conclusão

Os resultados deste estudo mostraram que a suplementação de nitrito melhora a colite experimental, através do restabelecimento do comprimento normal do cólon, na diminuição da expressão de MPO, de iNOS e de TNF- α e na mitigação das alterações histológicas.

Em relação aos possíveis efeitos adversos do nitrito, o presente estudo sugere que esta dose não é tóxica na medida em que não influenciou a pressão arterial sistólica nem a frequência cardíaca e o aumento da meta-hemoglobina encontra-se dentro dos limites de referência estipulados pelos autores.

10. Estudo n.º 5 ^[34]

Objetivo

Saber qual o impacto do nitrato na composição da microbiota intestinal e quais os efeitos que ocorrem na mucosa durante a disbiose provocada por antibióticos.

Protocolo

Foram formados 4 grupos de ratos Wistar

- Grupo 1: Controlo - apenas água.
- Grupo 2: Antibiótico - adição dos antibióticos neomicina (5 mg/mL), bacitracina (5 mg/mL) e imipenem (1,25 μ g/mL) na água durante 7 dias.
- Grupo 3: Nitrato - adição de nitrato (10 mM) na água durante 7 dias.
- Grupo 4: Antibiótico + nitrato - adição dos antibióticos neomicina (5 mg / mL), bacitracina (5 mg/mL) e imipenem (1,25 μ g/mL) + nitrato (10 mM) na água durante 7 dias.

Os ratos foram pesados diariamente durante o período experimental e foram colhidas amostras de fezes antes e depois do tratamento para avaliar o perfil da microbiota intestinal.

Após os sete dias, os cegos dos ratos foram pesados e foi analisada a expressão de ocludina e claudina-5, duas proteínas que fazem parte das *tight junctions*, bem como da iNOS e MPO.

Resultado

Tabela 5: Resultados do estudo

	Controlo	Antibiótico	Nitrato	Antibiótico + Nitrato
Peso Corporal	Aumentou cerca de 14,9%	Aumentou cerca de 15,5%	Perda de peso nos 2 primeiros dias. Nos restantes dias Aumentou cerca de 1,9%	Aumentou cerca de 8,9%
Peso do Cego	-	Aumento em relação ao controlo	Idêntico ao controlo	Diminuição em relação ao grupo antibiótico
Microbiota	Rica e diversificada. Sem alterações durante o período experimental	Rica e diversificada. Sem alterações durante o período experimental	Redução de 56 % da diversidade da microbiota	Redução de 48 % da diversidade da microbiota
Ocludina e Claudina-5	Sem alterações ao longo do período experimental	Sem alterações ao longo do período experimental	Diminuição	Aumento
iNOS e MPO	-	Pequena diminuição	Aumento	Diminuição

Conclusão

Em conclusão, este estudo sugere que o nitrato apresenta um efeito protetor a nível intestinal contra os antibióticos, isto porque a toma concomitante de nitrato e antibiótico diminuí a expressão de iNOS e MPO, impede a perda de peso corporal e aumenta a expressão de proteínas TJs.

Em relação à microbiota, o nitrato permite preservar uma % maior da diversidade de microbiota em relação ao grupo antibiótico, mas a diferença entre os dois não é muito significativa.

II. Estudo n.º 6 ^[35]

Objetivo

Investigar o efeito do nitrito na formação de ROS, mais especificamente na produção de radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), pelas células imunes.

Protocolo

Macrófagos de murganhos e monócitos humanos foram ativados com lipopolissacarídeos (LPS) de forma a induzir a formação de $O_2^{\cdot-}$. Foram utilizadas três concentrações de nitrito: uma concentração baixa 0,1 μ M, uma intermédia de 10 μ M e uma alta, de 1000 μ M.

O desenho experimental inclui quatro grupos:

- Grupo 1: Controlo - sem adição de LPS nem de nitrito.
- Grupo 2: LPS - adição de LPS.
- Grupo 3: Nitrito - adição de nitrito.
- Grupo 4: LPS + Nitrito - adição de LPS e nitrito.

Neste estudo foi avaliada a influência do nitrito na formação de O_2^{\cdot} em macrófagos e monócitos, na expressão de NADPH oxidase, mais especificamente a isoforma NADPH oxidase 2 que é responsável pela produção de O_2^{\cdot} nos macrófagos, na expressão de iNOS e na formação de peroxinitrito que resulta da reação entre o O_2^{\cdot} e o $\cdot NO$ produzido pela iNOS. O peroxinitrito é um agente oxidante potente que causa oxidação, nitração e S-nitrosilação do DNA, proteínas e lípidos. De um modo sumários, estas alterações ativam vias de morte celular.

Resultado

Tabela 6: Resultados do estudo

	LPS	Nitrito	LPS + Nitrito
O_2^{\cdot} em macrófagos	Aumento	Sem alterações independentemente da concentração	Diminuição com a concentração intermédia Sem alterações com restantes concentrações
NADPH oxidase	Aumento	Sem alterações	Aumentou
iNOS e peroxinitrito	Aumento	Sem alterações	Diminuição
O_2^{\cdot} em monócitos	Aumento	-	Valores idênticos ao controlo

Para verificar se a redução da produção de O_2^{\cdot} é dependente ou não do $\cdot NO$, foi adicionado aos quatro grupos um *scavenger* de $\cdot NO$ (cPTIO) e um inibidor da NOS (L-NAME).

A adição de cPTIO e L-NAME ao grupo controlo e LPS levou a um aumento da concentração de O_2^{\cdot} comparativamente ao controlo e grupo LPS sem cPTIO e L-NAME.

Em relação ao grupo LPS + nitrito, na presença de cPTIO, o efeito do nitrito na formação de O_2^{\cdot} foi suprimido, ocorrendo um aumento de O_2^{\cdot} idêntico ao grupo LPS + cPTIO. Na presença de L-NAME, no grupo LPS + nitrito ocorreu a diminuição da formação de O_2^{\cdot} .

Conclusão

Analisando os resultados, observamos que a adição de LPS nos macrófagos e monócitos leva ao aumento da expressão de NADPH oxidase 2 e iNOS, ocorrendo um aumento da

produção de O_2^{\cdot} e $\cdot NO$ que podem reagir entre si e levar à formação de peroxinitrito. No entanto estes efeitos são atenuados na presença de nitrito.

De acordo com o estudo, o nitrito não reduziu a expressão de NADPH oxidase 2 nos macrófagos, mas como ocorreu a diminuição da produção de O_2^{\cdot} , há a hipótese de o nitrito diminuir a atividade da NADPH oxidase, sendo necessários mais estudos para comprovar esta hipótese.

Observando os resultados obtidos no grupo tratado com nitrito, podemos verificar que o nitrito não afeta a produção de O_2^{\cdot} em macrófagos inativados, o que indica que o nitrito não afeta a formação fisiológica de O_2^{\cdot} .

Por fim, este estudo sugere que esta redução na formação de O_2^{\cdot} não se deve a uma ação direta do nitrito, mas ao $\cdot NO$ resultante da redução do nitrito.

12. Discussão e conclusão

A etiologia da DII ainda não está totalmente desvendada, mas há novas hipóteses quanto à sua gênese. A disbiose intestinal, com conseqüente comprometimento da integridade da barreira epitelial, associada a uma resposta imune exagerada à microbiota, são as ideias que atraem mais atenção por parte da comunidade científica na atualidade. Estes são os três pontos implicados na etiologia da DII e nos quais se pode tentar atuar na tentativa de evitar a progressão da doença. Como esta doença não tem cura, a procura por novas moléculas que demonstrem ter efeito no alívio deste estado inflamatório é importante, visto que se prevê um aumento contínuo da incidência e prevalência da DII. Uma das possíveis moléculas a ser usada para esse fim é o $\cdot NO$.

Já foi demonstrado que o $\cdot NO$ traz benefícios na proteção do sistema cardiovascular, no sistema nervoso e na regulação da resposta imune. Mas com a descoberta da via nitrato-nitrito- $\cdot NO$ surgiu um novo local de ação, o TGI. Assim, começaram a surgir hipóteses do possível efeito que o $\cdot NO$ pode ter no TGI e que este poderia ser usado no tratamento de doenças inflamatórias como a DII. Vários investigadores iniciaram estudos para pesquisar possíveis benefícios do $\cdot NO$ obtido a partir do nitrato da dieta no tratamento dessas doenças.

A microbiota intestinal desempenha funções importantes quer na manutenção da barreira epitelial, quer na eliminação de microrganismo patogênicos assegurando a homeostasia da mucosa intestinal. Quando se instala um estado de disbiose, há um desequilíbrio na microbiota, ativando uma resposta imune aberrante, que se caracteriza por uma diminuição da atividade das células Treg e da libertação de citocinas anti-inflamatórias, deixando de haver um mecanismo de regulação da resposta inflamatória. Conseqüentemente,

há um aumento da atividade das células Th1, Th2 e Th17, que libertam uma grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias (IL-17, TNF- α) que vão estimular a libertação de mais citocinas por parte de outras células imunes, como os macrófagos. Como resposta última e comum, ocorre a ativação da via de sinalização do NF-kB que, para além de estimular a ativação de células imunes, também aumenta a expressão de moléculas de adesão, como a ICAM-1 e a P-selectina, promovendo o recrutamento de mais células imunes para o local da inflamação. Os macrófagos vão também libertar ROS originando um estado de *stress* oxidativo. Todo este ambiente conduz à morte celular, com eliminação de células presentes na barreira epitelial. Consequentemente, a barreira epitelial torna-se mais permeável permitindo a infiltração de patógenos que vão estimular ainda mais o sistema imune. Além disso, o dano tecidual compreende também a diminuição da produção de mucina devido à destruição de células calciformes e, por conseguinte, a diminuição da espessura da camada de muco. Finalmente, a morte das células de Paneth, tem como resultado uma diminuição da libertação de moléculas antimicrobianas, ficando comprometida a defesa contra microrganismos estranhos ao hospedeiro.

Os seis estudos descritos neste trabalho sugerem que o NO pode modular vários dos mecanismos mencionados e que culminam num estado inflamatório crónico. Nos estudos 3 e 5, realizados para estudar o efeito do nitrato proveniente da dieta na regulação da microbiota intestinal, observou-se que na presença de nitrato a redução da riqueza e diversidade da microbiota é menor relativamente aquela que ocorre na presença de DSS. Além disso, os autores também observaram que algumas espécies comensais (pertencentes ao filo *Bacteroidetes*) que, na presença de DSS diminuem em número, com a adição de nitrato recuperam a sua população, ao mesmo tempo que ocorre uma diminuição do número de espécies patogénicas (*Helicobacter*). Ou seja, apesar de o nitrato, não repor na totalidade a microbiota presente num estado de eubiose, ele ajuda na reposição de algumas espécies importantes e na eliminação de outras que contribuem para a manutenção do estado inflamatório. Desta forma, o nitrato poderá ter um papel importante na regulação e manutenção da microbiota intestinal impedindo uma estimulação exagerada do sistema imune.

Deste trabalho de revisão também se depreende que o NO pode apresentar uma ação anti-inflamatória. Foram verificados, nos diferentes estudos descritos, a diminuição da expressão de fatores de inflamação como a iNOS e o NF-kB, a inibição de citocinas pró-inflamatórias (IL-17 e TNF- α), a diminuição da ativação de células Th1, Th2 e Th17 e o aumento das Treg e a diminuição da expressão de ICAM-1 e P-selectina.

Num ambiente inflamatório, como o que caracteriza a DII, a ação do NO pode ajudar na regulação da resposta imune porque o aumento da atividade das células Treg iria aumentar a

produção de citocinas anti-inflamatórias que são importantes para a supressão da resposta inflamatória. Ao mesmo tempo, o NO iria baixar a expressão de citocinas pró-inflamatórias, através da diminuição do número de células imunes no local. No estudo I foi observado que o NO exerce ação sobre as barreiras físicas a nível intestinal. O NO impede a destruição das células caliciformes, permitindo manter a produção de mucina ou mesmo aumentar através, da estimulação da sGC nas células epiteliais. Este efeito é importante para manter a espessura de muco e impedir a interação de microrganismo com as células epiteliais intestinais.

Nesse mesmo estudo foi também verificado um potencial efeito cicatrizante dos tecidos intestinais pelo NO . Este efeito pode dever-se à capacidade de o NO aumentar o fluxo sanguíneo no local afetado como também aumentar a proliferação de células epiteliais e a deposição de colagénio por parte dos fibroblastos. Este efeito cicatrizante é importante na doença de DII porque pode ajudar no restabelecimento da barreira intestinal destruída pela ação das citocinas pró-inflamatórias. Finalmente o NO também parece modular a produção de ROS. Averiguou-se que o NO diminui a atividade da NADPH oxidase 2 diminuindo a produção de ROS. As ROS induzem a peroxidação dos lípidos das membranas celulares, o que pode culminar na lise das células epiteliais aumentando a permeabilidade da barreira intestinal. A diminuição da produção de ROS pelo NO evita esta cascata de reações, permitindo manter a barreira epitelial intacta.

Em conclusão, perante os efeitos demonstrados pelo NO , o nitrato da dieta poderá desempenhar uma função importante na remissão do estado inflamatório típico da DII e, por conseguinte, ser eventualmente usado como suplemento com o objetivo de prevenir agudizações da doença.

13. Referências Bibliográficas

- [1] – ELIAKIM, A. *et al.* – **Inflammatory Bowel Disease.** World Gastroenterology Organisation Global Guidelines. 2015.
- [2] – MARK, W. Y. *et al.* – **The epidemiology of inflammatory bowel disease: East meets west.** Journal of Gastroenterology and Hepatology. 35:3 (2020), 380-389.
- [3] – YESHI, K. *et al.* – **Revisiting Inflammatory Bowel Disease: Pathology, Treatments, Challenges and Emerging Therapeutics Including Drug Leads from Natural Products.** Journal of Clinical Medicine. 9:5 (2020), 1273.
- [4] – AZEVEDO, L. F. *et al.* – **Estimating the prevalence of inflammatory bowel disease in Portugal using a pharmaco-epidemiological approach.** Pharmacoepidemiology and Drug Safety. 19:5 (2010), 499-510.
- [5] – MCDOWELL, C.; FAROOQ, U.; HASEEB, M. – **Inflammatory Bowel Disease.** In: ABAI, B. *et al.* StatPearls. 2020.
- [6] – BOURGONJE, A. R. *et al.* – **Oxidative Stress and Redox-Modulating Therapeutics in Inflammatory Bowel Disease.** Trends in Molecular Medicine. 26:11 (2020), 1034-1046.
- [7] – XAVIER, R. J.; PODOLSKY, D. K. – **Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease.** Nature. 448:7152 (2007), 427-434.
- [8] – ARIAS, E. V. – **Ulcerative colitis. Introduction.** Revista española de las enfermedades del aparato digestivo. 38:5 (1972), 623.
- [9] – YAO, Q. *et al.* – **Dietary Regulation of the Crosstalk between Gut Microbiome and Immune Response in Inflammatory Bowel Disease.** Foods. 10:2 (2021), 368.
- [10] – DISTRUTTI, E. *et al.* – **Gut microbiota role in irritable bowel syndrome: New therapeutic strategies.** World Journal of Gastroenterology. 22:7 (2016), 2219–2241.
- [11] – ZHANG, Y.; LI, Y. – **Inflammatory bowel disease: Pathogenesis.** World Journal of Gastroenterology. 20:1 (2014), 91-99.
- [12] – TAKAKUWA, A. *et al.* – **Butyric Acid and Leucine Induce α -Defensin Secretion from Small Intestinal Paneth Cells.** Nutrients. 11:11 (2019), 2817.
- [13] – JÄDERT, C. *et al.* – **Preventive and therapeutic effects of nitrite supplementation in experimental inflammatory bowel disease.** Redox Biology. 2:1 (2014), 73-81.

- [14] – BREYNER, N. M. *et al.* – **Microbial Anti-Inflammatory Molecule (MAM) from *Faecalibacterium prausnitzii* Shows a Protective Effect on DNBS and DSS-Induced Colitis Model in Mice through Inhibition of NF- κ B Pathway.** *Frontiers in microbiology*. 8 (2017), 114.
- [15] – GEREMIA, A. *et al.* – **Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease.** *Autoimmunity Reviews*. 13:1 (2014), 3-10
- [16] – ATREYA, I. *et al.* – **NF- κ B in inflammatory bowel disease.** *Journal of Internal Medicine*. 263:6 (2008), 591-596.
- [17] – FORMAN, H. J.; TORRES, M. – **Reactive Oxygen Species and Cell Signaling.** *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 166:1 (2002).
- [18] – PEREIRA, C. *et al.* – **Oxidative Stress and DNA Damage: Implications in Inflammatory Bowel Disease.** *Inflammatory Bowel Diseases*. 21:10 (2015), 2403–2417.
- [19] – ROOS, DIRK – **Chronic granulomatous disease.** *Methods in Molecular Biology*. (2019), 531–542.
- [20] – LEJEUNE, M. *et al.* – **Role of EP4 receptor and prostaglandin transporter in prostaglandin E2-induced alteration in colonic epithelial barrier integrity.** *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 299:5 (2010), 1097-1105.
- [21] **Goodman & Gilman's: The pharmacological basis of therapeutics.** 11^a Ed. United States of America: Brunton, Laurence L.; Lazo, John S.; Parker, Keith L., 2006. ISBN 0-07-160891-5.
- [22] – ROCHA, B. S. *et al.* – **A shortcut to wide-ranging biological actions of dietary polyphenols: Modulation of the nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in the gut.** *Food and Function*. 5:8 (2014), 1646-1652.
- [23] – WEITZBERG, E.; LUNDBERG, J. O. – **Novel Aspects of Dietary Nitrate and Human Health.** *Annual Review of Nutrition*. 33 (2013), 129-159.
- [24] – FÖRSTERMANN, U.; SESSA, WI. C. – **Nitric oxide synthases: regulation and function.** *European Heart Journal*. 33:7 (2012), 829-837.
- [25] – LI, H.; POULOS, T. L. – **Structure–function studies on nitric oxide synthases.** *Journal of Inorganic Biochemistry*. 99:1 (2005), 293-305.
- [26] – ROCHA, B. S.; NUNES, C.; LARANJINHA, J. – **Tuning constitutive and pathological inflammation in the gut via the interaction of dietary nitrate and**

polyphenols with host microbiome. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 81 (2016), 393-402.

[27] – LUNDBERG, J. O.; WEITZBERG, E.; GLADWIN, M. T. – **The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics.** Nature Reviews Drug Discovery. 7:2 (2008), 156-167.

[28] – HORD, N.G; TANG, Y.; BRYAN, N. S. – **Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits.** The American Journal of Clinical Nutrition. 90:1 (2009), 1-10.

[29] – WALLACE, J. L.; MILLER, M. J. S. – **Nitric oxide in mucosal defense: A little goes a long way.** Gastroenterology. 119:2 (2000), 512-520.

[30] – HU, L. *et al.* – **Nitrate ameliorates dextran sodium sulfate-induced colitis by regulating the homeostasis of the intestinal microbiota.** Free Radical Biology and Medicine. 152 (2020), 609-621.

[31] – KIHARA, N. *et al.* – **Vanilloid receptor-1 containing primary sensory neurones mediate dextran sulphate sodium induced colitis in rats.** Gut. 52:5 (2003), 713-719.

[32] – JÄDERT, C. *et al.* – **Decreased leukocyte recruitment by inorganic nitrate and nitrite in microvascular inflammation and NSAID-induced intestinal injury.** Free Radical Biology and Medicine. 52:3 (2012), 683-692.

[33] – OHTAKE, K. *et al.* – **Oral nitrite ameliorates dextran sulfate sodium-induced acute experimental colitis in mice.** Nitric Oxide. 23:1 (2010), 65-73.

[34] – ROCHA, B. S. *et al.* – **Inorganic nitrate prevents the loss of tight junction proteins and modulates inflammatory events induced by broad-spectrum antibiotics: A role for intestinal microbiota?.** Nitric Oxide. 88 (2019), 24-34.

[35] – YANG, T. *et al.* – **Inorganic nitrite attenuates NADPH oxidase-derived superoxide generation in activated macrophages via a nitric oxide-dependent mechanism.** Free Radical Biology and Medicine. 83 (2015), 159-166.

14. Anexos

Anexo 1

Tabela 7 – Sistema de pontuação DAI. Adaptada a [31].

Pontuação DAI	Perda de Peso	Consistência das fezes	Sangramento retal
0	Nenhum	Normal	Normal
1	1 – 5%		
2	5 – 10%	Fezes soltas	Sangre oculto nas fezes
3	10 – 20%		
4	>20%	Diarreia	Sangramento retal grave

Anexo 2

Tabela 8 – Sistema de pontuação gravidade da lesão da mucosa. Adaptada a [33].

Pontuação DAI	Mucosa do cólon
0	Normal
1	Perda de 1/3 das criptas
2	Perda de 2/3 das criptas
3	Lamina própria formada por uma monocamada de células epiteliais. Baixa infiltração de células inflamatórias
4	Erosão da monocamada e elevada infiltração de células inflamatórias